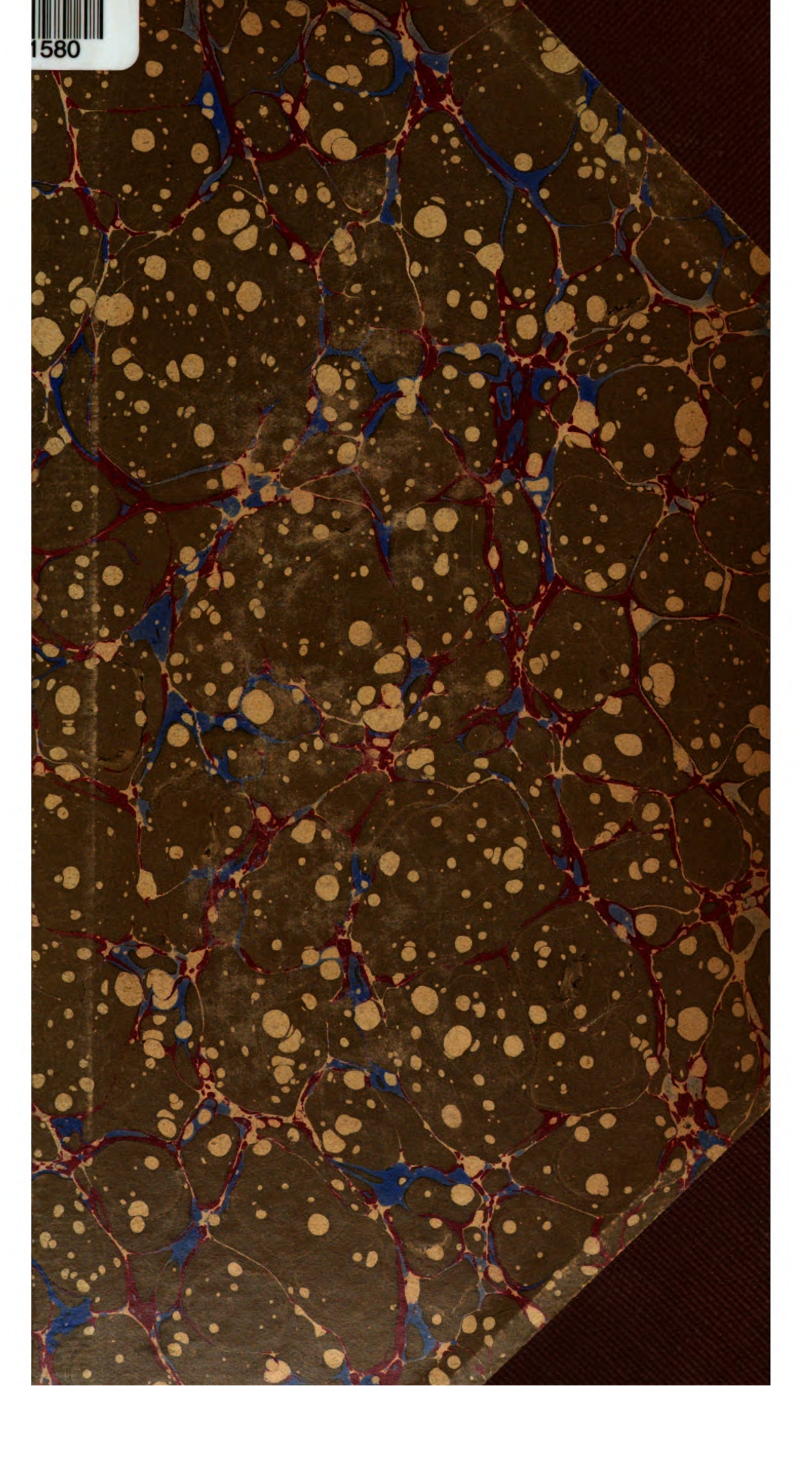
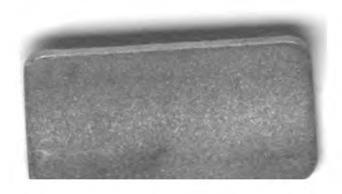





Dei
Sub Numine
Viget













Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

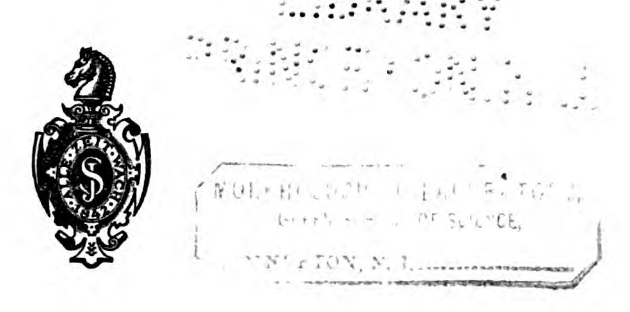
Herausgegeben von

**F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. v. Noorden-Frankfurt a. M.,
E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin**

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

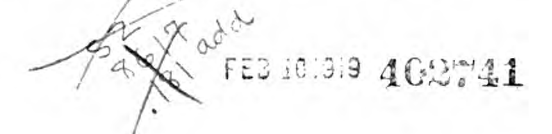
Siebenundachtzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1918.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig

Inhaltsverzeichnis.



Über das Vorkommen von Kreatinin und Kreatin im Blute bei Gesunden und Kranken. III.

Weitere Beiträge zur Kenntnis der Norm, insonderheit bezüglich des höheren Lebensalters.

Von

Joh. Feigl.

(Aus dem Chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 3. Dezember 1917.)

Einleitung.

Verf. hat in einer früheren Mitteilung (1917) an Hand reichlicher Materialien zur Frage des Vorkommens von Kreatinin und Kreatin im Blute bei Gesunden und Kranken Stellung genommen[1]). In den statistischen Erörterungen über die pathologischen Umstimmungen dieser Krystalloidfraktion des Blutes, die als Teilabschnitt des Reststickstoffproblems in der genannten wie in ferneren Mitteilungen [Feigl[2]), Feigl und Luce 1917, 1918[3])] behandelt worden ist, betonte Verf.

---

[1]) Joh. Feigl, Über das Vorkommen von Kreatinin und Kreatin im Blute bei Gesunden und Kranken. I. Mitteilung. Diese Zeitschr. **81**, 1/2, S. 14 bis 80, 1917. — Die Untersuchungen wurden im Frühsommer 1914 eingeleitet und nach etwa 1 1/2jähriger Unterbrechung (durch Kriegsdienst des Verf.) wieder aufgenommen.

[2]) Joh. Feigl, Chemische Blutuntersuchungen an Teilnehmern eines Armeegepäckmarsches. II. Reststickstoff usw. Diese Zeitschr. **76**, 5/6, 297 bis 313, 1916; und fernere Mitteilungen (s. u.).

[3]) Joh. Feigl und H. Luce, Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie. I. Über den Reststickstoff usw. Festschrift für Johs. Orth. Diese Zeitschr. **79**, 3/4, 162 bis 202, 1917. — Dieselben, Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie. IV. Diese

immer wieder die Notwendigkeit fester Grundlagen für die normalen Verhältnisse. Diese waren bis dahin von O. Folin[1] (1914) sowie von V. C. Myers[2] (1915) und ihren Mitarbeitern angeschnitten worden, jedoch kaum ausreichend belegt. In weit geringerem Grade erlangten gewisse fernere Angaben über die fraglichen Substanzen Interesse und Bedeutung; O. Neubauer (1914) und M. Rosenberg[3] (1916) fügten ihren diagnostischen wie pathochemischen Äußerungen einzelne, unzureichend belegte Urteile über die Normalien des Blutkreatinins hinzu. Später traten A. O. Gettler und W. Baker in einer Analysenreihe über die Zusammensetzung des normalen menschlichen Blutes mit Ergebnissen hervor, die zwar systematisch für sich wie im Hinblick auf die übrigen bestimmten Konstanten von gewissem Interesse sind, aber doch zu — bisher leider nicht befriedigend geklärten — Bedenken Anlaß geben müssen[4]. Gettler (mit R. Oppenheimer) betonte seinen Standpunkt noch einmal.

Sicher ist, daß die Ausschläge der Methoden zur Analyse von Kreatin und Kreatinin im Blute unter pathochemischen Verhältnissen beträchtliche sein können, was die amerikanischen Forscher[5] sowie Feigl und Luce an Grenzfällen bei systematischer Erforschung überzeugend nachgewiesen haben[6]. Ebenso sicher ist aber, daß

Zeitschr. **1918**. — Joh. Feigl, Zum gegenwärtigen Stande der chemischen Blutuntersuchung. Vortrag im Ärztl. Verein zu Hamburg, Sitzung vom 2. Mai 1917. Hamb. Ärzte-Corr. **1917**; Deutsche med. Wochenschr. **1917**, Nr. 40. — Joh. Feigl, l. c., bes. IV. Mitteilung! Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **1918**.

[1]) O. Folin and W. Denis, On the creatinine and creatine content of the blood. Journ. of Biol. Chem. **1914**, XVII, 487 bis 491. — O. Folin, On the determination of creatinine and creatine in blood, milk, tissues. Ebenda 475 bis 481.

[2]) V. C. Myers mit M. S. Fine (1915) und mit W. G. Lough 1915, zit. bei Joh. Feigl, Über Kreatin. I. (1917).

[3]) l. c. bei Joh. Feigl, Über Kreatinin. I. 1917.

[4]) A. O. Gettler and W. Baker, Chemical and physical analysis of the blood in 30 normal cases. Journ. of Biol. Chem. **1916**, XXV. 211 bis 222. Die Bedenken erstrecken sich auf den R-N, $\overset{+}{\text{Ur}}$-N, Kreatinin usw.

[5]) Besonders bei Nephritis: V. C. Myers und M. S. Fine loc. cit. Ferner in detaillierten Analysen: A. C. Woods, Studies of nitrogen partition in the blood and in spinal fluid. Arch. f. Int. Med. **1915**, XVI, 577.

[6]) Joh. Feigl und H. Luce, s. u., sowie Avitaminosen usw., Joh.

bis zur erwähnten ersten Mitteilung des Verf. die festen, wirklich belegten und analytisch definierten sowie statistisch bewerteten (bzw. abschätzbaren) Grundlagen über das normale Kreatinin des Blutes sehr spärliche waren[1]); man darf sagen, daß es sich nur um einzelne wenige Zahlen handelte, die allerdings aus guter Hand stammten (besonders O. Folin und W. Denis) und die im Kreise der Fraktion des gesamten Nichteiweißstickstoffs vergleichend dargestellt waren.

Wir haben namentlich aus den neuen Untersuchungen von I. Bang (1916) zur Reststickstofffrage in großer Deutlichkeit Richtpunkte vor Augen geführt erhalten, in denen sich Limitationen über die fraglichen Substanzen bewegen können[2]). Jedenfalls haben diese Arbeiten, die vom Verf. (1917) mit größeren Analysenmaterialien in bestimmten Richtungen fortgeführt wurden[3]), den Spekulationen über enge Grenzzahlenschemata, wie solche namentlich in Publikationen und Vorstellungen deutscher Forscher der jüngeren Zeit im Hinblick auf praktische Gesichtspunkte immer wiederkehrend und sehr zum Schaden der reinen wie angewandten Studien über die einschlägigen Gebiete betätigt wurden, vermutlich den letzten, genau orientierten Stoß gegeben. Das soll nicht heißen, daß es nicht gewisse Anhalte und Grundlagen zur Kritik von Zahlenbefunden für den Gesunden wie für den Kranken schlechthin geben sollte, und daß Grenzlinien kaum zu ziehen seien, sondern es soll vor der Errichtung von zu engen, künstlich erstarrten Schranken gewarnt werden; es soll, wo es um so wichtige und verantwortliche Begriffe geht, zur Sammlung und Kritik gemahnt werden. Diese können nur durch Überschau größerer

---

Feigl, Lagererkrankung (s. u.), Inanition, und Joh. Feigl über Kreatinin, I, Tab. IX, S. 55, Tab. X, S. 57, Tab. XI, S. 59, Tab. XII, S. 62.

[1]) Ebenda Tab. VIII, S. 50; Folin 4 Fälle, Myers 7 Fälle, Neubauer und Rosenberg unbelegt.

[2]) I. Bang, Über den Reststickstoff des Blutes. I bis V. Diese Zeitschr. 72, 104 bis 168, 1916.

[3]) Joh. Feigl, Neue Beiträge zur Kenntnis des RN der Blutflüssigkeit, der Kritik einschlägiger Methoden, der Beurteilung und Anwendung. I. Der gesamte R-N; Derselbe. II. $\overset{+}{\mathrm{Ur}}$-N. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **1918**; ferner III. Struktur ebda. IV. Kreatinin, Kreatin, $\overline{\mathrm{Ur}}$, ebda. V. Aminosäure-N, ebda. VI. Detailanalysen, ebda. VII. Ergebnisse, ebda.

Reihen und durch Gliederung der Einzeltreffer in statistischer Beurteilung, sowie, was die nächste Hauptsache ist, durch genau definierte und von vollster Aufmerksamkeit wie penibler Abwägung aller Interferenzen beherrschte, chemisch-analytische Methodik heraufgeführt werden. Was die Sammlung, Auswahl und Benutzung von Fällen nach ihrer Artung angeht, so ist darüber in jüngeren Arbeiten häufig gesprochen worden[1]). Verf. hat wiederholt auf die Bedeutung möglichst ausgreifender, speziell biochemischer Prüfungen hingewiesen, die sicher durch Belastungen und funktionelle Diagnostik zumeist erweitert werden können[2]).

Die erste Zusammenstellung über Beobachtungen betreffend den Kreatiningehalt des Blutes bei gesunden, ausgeruhten, befriedigend ernährten Männern vermittelt einen Überblick über frühere wie etwa gleichzeitige Äußerungen und enthält das eigene, reichliche Material. Wenn wir kursorisch auf die hauptsächlichen Ergebnisse, soweit sie zur heutigen Auseinandersetzung über das zu besprechende, neu einbezogene Material von Männern verschiedener (höherer) Altersstufen nötig sind, eingehen, so wäre zu sagen, daß wir an der allgemeinen oberen Grenze von etwa 2,0 mg Kreatinin für 100,0 ccm Vollblut festhalten müssen, soweit die bisherigen Grundlagen uns bestimmen; ferner haben wir zu beachten, daß es in der Breite gesunder, jüngerer Männer immerhin Treffer für das Blutkreatinin geben kann, die sich um ein weniges über 2,0 mg erheben, und die nach unseren Prüfungen nicht auf besondere — seien es pathologische, seien es alimentäre — Schwankungen außerhalb der Norm zurückgeführt werden können. Den großen Durchschnitt suchten wir um etwa 1,5 mg Kreatinin für 100 ccm Vollblut und begrenzten den normalen Umfang, wie beschrieben, wobei wir gleichzeitig in Staffeln die Treffergebnisse anordneten.

In einer späteren Arbeit (1917) wurde, nachdem vorher allgemein Männer von 22 bis 42 Jahren zur Untersuchung herangezogen waren, die Aufgabe erweitert[3]). Es wurde als

[1]) Joh. Feigl l. c. (Über Kreatinin. I), 1917, sowie (Über R-N. I) 1918.

[2]) Joh. Feigl l. c. (Über Kreatinin. I), 1917, S. 45ff.

[3]) Joh. Feigl, Über das Vorkommen von Kreatinin und Kreatin bei Gesunden und Kranken. II. Beobachtungen an Jugendlichen.

wichtig angesehen — wofür gewisse spezielle Verhältnisse der Physiologie von Kreatinin und Kreatin (Umfang und Auftreten des letzteren) den Anhalt und Ausgangspunkt bildeten, wie später zu erörtern sein wird —, jüngere Lebensjahre zur Prüfung heranzuziehen. Dabei ergaben sich folgende Befunde, die an Knaben gewonnen wurden. Die Fälle ließen sich in zwei Untergruppen teilen: Altersgrenze 10 Jahre, Durchschnitt 6 Jahre, bzw. Altersgrenze 15 Jahre, Durchschnitt 12 Jahre. Auf die Abweichungen dieser Gruppen untereinander sowie jeder Gruppe im Gegensatz zu den durch das Durchschnittsalter von 33 Jahren gekennzeichneten Reihen von Erwachsenen (Männern) kann hier nur hingewiesen werden. Zusammenstellung und gegensätzliche Wiedergabe finden wir in der nachfolgenden Tabelle, des näheren in der genannten Publikation (II. Mitteilung, 1918). Wir betonten gewisse, anscheinend konstante Abweichungen. Was nun die bisherige Statistik angeht, so ist, wennschon die Beweiskraft, namentlich im Vergleich zu den früher genannten und beurteilten, sonstigen Äußerungen in der Literatur, als eine gesicherte gelten darf, doch von uns der Standpunkt eingenommen worden, die einschlägige Sammelarbeit (Verbreiterung der Kenntnisse) so ergiebig wie möglich fortzusetzen. Nachdem sich einmal gezeigt hatte, daß Umfang, Grenzen, Durchschnitte und Trefferverteilung verschieden ausfallen können je nach dem Lebensalter, ist ohne weiteres auch für die Frage der praktischen Benutzung der Bestimmung von Kreatinin und Kreatin in Diagnose und Prognose die Bedeutung dieser Abweichungen einleuchtend. Wir gedenken ausdrücklich der mittelbaren Bedeutung gesicherter Befunde über das Blutkreatinin vom Standpunkte der Fragen des Blutzuckers und der Restreduktion aus. Die erwähnten Grundlagen müssen die Verhältnisse bestimmen, die zum Übergange in pathologische Formen führen. Diese wieder zu bewerten bzw. abzuschätzen, ist nur bei gesicherten Normalien ein vernünftiges Beginnen[1]).

Weitere Bemerkungen über die Ausgestaltung der Methodik. Diese Zeitschr. 84, 3/4, 264, 1917. A. O. Gettler und R. Oppenheimer, Faktoren über Genauigkeit der Kreatininbestimmung. Journ. of Biol. Chem. 29, 47, 1917.

[1]) Joh. Feigl l. c. (Über Kreatinin. I). S. 27, 28, 29, 30.

Wie sehr die Konstanten für die genannten Lebensabschnitte auseinanderfallen, lehren unsere Beobachtungen.

Andererseits haben sich bei Fortführung der Untersuchung zwei weitere Aufgaben, Nebenabschnitte in der Aufklärung der Normalien über die Kreatinämie und Kreatininämie ergeben. Einmal ist hier zu fordern — was nach dem Gesagten ohne weiteres verständlich und nach den Zahlen zwingend erscheinen muß —, daß auch wesentlich jüngere Lebensabschnitte (des frühesten Kindesalters) geprüft werden. Über diese soll später berichtet werden. Ferner ist die Reihe nach oben hin zu erweitern. Nachdem die von J. Feigl erörterte, früher von O. Folin in die Diskussion eingeführte und wahrscheinlich gemachte, später von I. Bang an einigen Fällen als zwar unbewiesene, doch an sich denkbare Möglichkeit des Vorkommens gewisser Steigerungen des RN-Spiegels mit dem Lebensalter von J. Feigl einer ausgreifenden Prüfung mit reichlichem Materiale unterzogen wurde, wobei sich die Nachweisbarkeit tatsächlicher Tendenzen zur Vergrößerung der RN-Werte dartun ließ, gewann auch die gleiche Frage im Gebiete von Kreatinin und Kreatin Interesse[1]). Immerhin wird man die Retention von Harnstoff bzw. selbst von Aminosäuren unter andere Gesichtspunkte bringen müssen als die des Kreatinins, deren spezielle Voraussetzungen nach Entstehung, Bildung, Ergiebigkeit der Quellen, Umformung usw. etwas andere sind und sein müssen. Trotzdem wäre an die Möglichkeit einer (relativen) Speicherung zu denken, die, wie oben angedeutet, von unmittelbarem Einflusse auf die „Normalien" (des betreffenden Lebensalters) und damit auf die pathochemischen Umstimmungen, deren Messung und Beurteilung sein mußte[2]). Es waren also praktische Ziele an der Förderung dieser Aufgabe mit interessiert.

---

[1]) Joh. Feigl l. c. (Über Kreatinin. 1917. II. Abschnitt. Erörterung der Ergebnisse vom Standpunkte der Frage nach der absoluten Höhe des gesamten RN in Beziehung zum Lebensalter. S. 267. — O. Folin und W. Denis (1913), sowie I. Bang (1915), besprochen bei J. Feigl (Neue Untersuchungen über RN. I und II), 1918.

[2]) Joh. Feigl, Befunde aus der pathologischen Physiologie, l. c. (Über Kreatinin. I) 1917, Tab. XIII, S. 68, Tab. VII, S. 49. Derselbe, Biochemische Untersuchungen über den Einfluß von Marschanstrengungen auf die Zusammensetzung des Blutes. Beobachtungen an Gesunden und Rekonvaleszenten. Diese Zeitschr. 84, 5/6, 332, 1917.

Es ist früher betont worden, daß neben der Verbreiterung unserer Kenntnisse, die sich in erfreulicher Stichhaltigkeit und Beweiskraft der Statistiken äußern mußte, einer Vertiefung derselben nachzugehen war. Dieses Bestreben führte uns zur Inangriffnahme der Frage nach dem Einflusse von Ruhe und Bewegung, von Gebrauch, Nichtgebrauch, Status des Muskelsystems. Der von uns mehrfach definierte Nüchternwert ist erreichbar bei Bettruhe, teilweiser Ruhe, sowie nach arbeitsreichen Tagen, in gewissem „Training", Ernährungsform, Wasserkonsum usw. Es haben sich, was hier vorab erwähnt sein möge, aus diesen und verwandten Verhältnissen Anhaltspunkte gewinnen lassen, die uns weiterleiten zum Verständnis gewisser, heute noch unüberbrückbar anmutender Gegensätze in den Anschauungen über die Normalien der Kreatininämie[1]). Später trat die Frage nach den Wirkungen von seiten der Ablenkungen der Ernährungsgewohnheiten, den Herabstimmungen des Stoffwechsels, so wie sie im sichtbaren Ablaufe der Zustände zum Inanitionsödem führten, an uns heran[2]). Indes, abgesehen von den rein statistischen Verhältnissen, die ihrerseits von Interesse sein dürfen, darf hier erwähnt werden, daß keineswegs alle Teilabschnitte dieser Aufgaben im Blute lösbar waren bzw. darin lösbar sind; wir mußten die Kreatinfrage auf den Harn übertragen[3]). Der Hauptteil der auf Vertiefung hindrängenden Bestrebungen betraf indes die Wurzel der gesamten Frage, das Erkenntnismittel selbst, die analytische Methodik der Kreatininämie und Kreatinämie. Dem Fachmann mußten, nachdem O. Folin seine schöne Methodik niedergelegt hatte, die Schwierigkeiten derselben unbedingt dann auffallen, wenn sie an verschiedenen Blutarten unter gewandelten äußeren Bedingungen betätigt wurde[4]).

---

[1]) So hat u. a. M. Rosenberg unrichtig — wie die Entwicklung später erwiesen hat — gewisse Differenzen aus dem Zustande herleiten wollen. — Joh. Feigl l. c. (Über Kreatinin. I) 1917, Fußnote S. 48; ebenda Fußnote S. 65.

[2]) Joh. Feigl, Neue Beiträge zur deskriptiven Biochemie gewisser Ödemzustände. I. Untersuchungen an Blut und Serum. Diese Zeitschr. 1918.

[3]) wie [2]) (S. 9).

[4]) Joh. Feigl l. c. (Über Kreatinin. I) 1917. Einige Bemerkungen über die Mehrdeutigkeit der Kreatininreaktion. S. 71ff. Derselbe l. c.

Ihre anscheinende Einfachheit schien ohne weitere Beobachtung der Details (auch der nicht speziell beschriebenen) in die Augen springend; Modifikationen, die auf Erleichterungen ausgingen, stellten sich ein und unterstützten dies einmal geweckte Interesse[1]). Tatsache ist, daß von verschiedenen Seiten mit Eifer auf die Anwendung der Methode eingegangen wurde, und daß alsbald mit den Befunden ein System von schematischen Grenzzahlen, von differentialdiagnostischen und prognostischen Anhalten — in direkten Werten — auch da entworfen, befolgt und empfohlen wurde, wo nach eigenem Geständnis gewisse nicht unbedenkliche Unstimmigkeiten und Abweichungen offensichtlich geworden waren und zugegeben werden mußten[2]).

Verf., der sich seit 1914, unmittelbar nach der Mitteilung Folins, mit der Frage des Vorkommens von Kreatinin in Blut, Milch, Punktaten, Liquor, Organextrakten beschäftigte, sah sich genötigt, in einer längeren Darlegung der analytischen Verhältnisse auf die Schwierigkeiten der Methode an sich einzugehen und bedenkliche Verwischungen zu bezeichnen, die sich in der kurzen Frist eingeschlichen hatten[3]). Auf die einschlägigen Erörterungen einzugehen, ist hier nicht mehr der Ort; es genüge der Hinweis, daß der objektiven Fehlerquellen sicherlich einige, der subjektiven Fehlermöglichkeiten im Gebrauche durch weniger Geübte und analytisch Unkritische sehr viele sind. Die Kritik der Reagenzien und der Maßstäbe erwies sich als sehr wichtig, so daß auch diese noch verdächtig erwiesen wurden, den Werten und Ergebnissen Abbruch zu tun[4]). In diese Sachlage hinein traf die von F. H. Mac Crudden und C. S. Sargent geführte Polemik gegen die Originalmethodik. Ihre Grundlagen, Er-

---

(Über Kreatinin. II) 1917, Das Verhalten von Zuckern usw. im Abschnitt 3. Weitere Bemerkungen über den Stand und die Ausgestaltung der Methodik, S. 273; sowie l. c. (Über Kreatinin. I) 1917. Diabetes u. a. in Tab. IX, S. 55.

[1]) Joh. Feigl l. c. (Über Kreatinin. I), besonders Tab. XV, S. 70, sowie l. c. (Über Kreatinin. II) u. a. S. 275. Übertragung von Vorschlägen zur Verfeinerung und Verbesserung siehe l. c. 1917; besonders L. Baumann und L. Morris, S. 72ff.

[2]) Joh. Feigl l. c. (Über Kreatinin. I) 1917.

[3]) Siehe die Limitationen nach M. Rosenberg und ihre Kritik, l. c. 1917, S. 65.

[4]) Joh. Feigl l. c. (Über Kreatinin. I) 1917.

wägungen und Folgerungen hat Feigl besprochen und zurückgewiesen (1918). Etwa gleichzeitig traten dann auch H. Hunter und W. R. Campbell sowie der Autor der Methode O. Folin in Gemeinschaft mit E. A. Doisy durch Nachprüfungen der Angaben von seiten der Angreifer hervor, die vernichtend gewesen waren. Der Tenor der Nachprüfungen genannter Autoren, Hunter und Campbell, sowie Folin und Doisy stimmt mit der Mitteilung von Feigl überein[1]). Mit dem Nachweise der Haltlosigkeit der Angriffe verband Folin Verbesserungsvorschläge bzw. Umformungen seiner Methodik, die Verf. überarbeitet und empfohlen hat[2]). Wie man sieht, ist die Anfechtung des Originalverfahrens auf einem (allerdings fälschlich orientierten) Wege der Methodenkritik gekommen; sie wurde richtiggestellt, lehrte aber, worauf Verf. sich genötigt sah, hinzuzeigen, daß es Quellen zur Störung und grundsätzlichen Vernichtung des Wertes der Kreatininbefunde gibt, die sicher wenig bekannt waren und an Orten eine Rolle gespielt haben dürfen, wo analytische Kritik und Vorarbeit der Anwendung fehlte. Um wieviel es bei der fraglichen Polemik ging, deren ursprüngliche Schlüsse weiter ausgriffen, als auf das enge Gebiet des Blutkreatinins, lehrt die einschlägige Literatur. Methodisch exakte Untersuchungen im Gesamtgebiete von Kreatinin und Kreatin haben durch die Richtigstellung ihren vollen Wert behalten. Wir haben allen Grund, die bisherigen Ergebnisse zur Kreatininämie und Kreatinämie da in Zweifel zu ziehen, wo sich auch sonst methodische Mängel gezeigt haben[3]); wo die analytischen Verhältnisse gewertet wurden, ist auch die Kenntnis des Pikrinsäurefehlers vorauszusetzen, mithin die Stichhaltigkeit der Zahlen anzunehmen. Immerhin hat die Lehre von Kreatinin und Kreatin des Blutes, nachdem sie einmal so im Feuer gestanden hat, festere Grundlagen erworben und darf, besonders nach der modifizierten Methode, weiterem Ausbau in normalen und pathologischen Verhältnissen zugängig gemacht

---

[1]) Einschlägige Literatur, Äußerungen und Grundlagen siehe Joh. Feigl l. c. (Über Kreatinin. II) 1918.

[2]) Wesentlich ist die nachträgliche Entfernung eines Anteiles der zugesetzten Pikrinsäure (s. Art.).

[3]) Wie besonders da, wo sich die Berechtigung zu Bedenken über die gewählten Maßstäbe ergibt.

werden. Freilich bleibt die vom Verf. diskutierte Möglichkeit des Einflusses von Interferenten der Pikrinsäurereduktion, namentlich in der Pathologie, beträchtlich. Sie wird weiterhin Aufgaben stellen müssen.

Tabellen und Befunde.

Nachfolgend sollen Beobachtungen an älteren Männern mitgeteilt werden. Die Anordnung in Altersstufen entspricht derjenigen in parallelen Arbeiten von J. Feigl über die Normalien des RN-Gebietes. Wir teilen Gruppen ein: Altersklasse B von 40 bis 50 Jahren, C von 50 bis 60 Jahren, D von 60 bis 70 Jahren, E von 70 bis 80 Jahren und mehr. Die klinischen und funktionellen Begriffe nach den betreffenden analytischen Grundlagen wurden mehrfach erörtert, so besonders der Begriff der Altersschwäche in dem von uns praktisch angenommenen Sinn, der sich als enger begrenzte Auswahl aus dem in Krankenanstalten und Altersheimen sowie Siechenhäusern gewöhnlich benutzten charakterisiert. Meist handelte

Tabellen.

Tabelle I.

Kreatinin und Kreatin im Blute gesunder (und geheilter) Männer (B).

Altersstufe 40 bis 50 Jahre.
mg in 100 ccm Blut.

Anzahl der untersuchten Fälle (gesamt 72)		Kreatinin		Kreatin[2])
absolut	prozentisch	frei (präformiert)	gesamt[1]) + Kreatin-Kreatinin	
10	14	unter 1,0	6,0	6,2
14	19	1,0—1,2	6,3	6,2
24	33	1,2—1,5	6,8	6,7
20	27	1,5—2,0	7,2	6,6
4	6	2,0—2,5[3])	8,5	6,8
0	0	2,5 und mehr	0	0

Bemerkungen: Prozentzahlen abgerundet. Kreatinbestimmung in 48 Fällen durchgeführt.

[1]) Angaben als Reihendurchschnitte. Extreme (für die Gesamttabelle) 5,2 und 9,7.

[2]) Angaben als Reihendurchschnitte. Extreme (für die Gesamttabelle) 5,1 und 9,2.

[3]) 2mal 2,1 mg, 1mal 2,2 mg, 1mal 2,3 mg.

es sich um längere klinische Beobachtungsfristen, die uns durch geeignete Untersuchungsverfahren in den Stand setzten, mit Sicherheit klar über den Fall zu urteilen. Die Ausübung der hinreichend beschriebenen Analysenmethodik geschah oft mit 2,0 ccm Blut; Art der Reagenzien u. a. wurden jüngst besprochen. Die Ergebnisse der Altersklassen sind im einzelnen in den Tabellen I, II, III, IV niedergelegt. Die Zusammenfassung erfolgt aus Rücksicht auf Vergleichsmöglichkeit gemeinsam mit den Untersuchungsergebnissen der älteren Reihen in Tabelle V.

Die Tabelle — Altersklasse vom 40. bis 50. Lebensjahre, gesunde und geheilte[1]) Männer, Umfang 72 Personen — zeigt 6°/₀ der Treffer (4 Fälle mit 2 mal 2,1 mg, 1 mal mit 2,2 mg, 1 mal mit 2,3 mg Kreatinin für 100 ccm Vollblut) oberhalb 2,0 mg, der allgemeinen oberen Grenze. 27°/₀ (20 Fälle) der

Tabelle II.

Kreatinin und Kreatin im Blute gesunder (und geheilter) Männer (C).

Altersstufe 50 bis 60 Jahre.
mg in 100 ccm Blut.

Anzahl der untersuchten Fälle (gesamt 100) absolut	prozentisch	Kreatinin frei (präformiert)	Kreatinin gesamt[1]) + Kreatin-Kreatinin	Kreatin[2])
11	11	unter 1,0	6,0	6,2
18	18	1,0—1,2	6,4	6,5
21	21	1,2—1,5	7,5	7,3
37	37	1,5—2,0	7,2	7,2
12	12	2,0—2,5[3])	7,8	7,6
1	1	2,5 u. mehr[4])	8,5	7,2

Bemerkungen: Prozentzahlen abgerundet. Kreatinbestimmung in 64 Fällen durchgeführt.

[1]) Angaben als Reihendurchschnitte. Extreme (für die Gesamttabelle) 5,4 und 10,5.

[2]) Angaben als Reihendurchschnitte. Extreme (für die Gesamttabelle) 5,3 und 9,5.

[3]) 3 mal 2,1 mg, 5 mal 2,2 mg, 1 mal 2,3 mg, 1 mal 2,4 mg.

[4]) 2,5 mg.

---

[1]) Unter diese Angaben fallen frühere Begriffe, in den Altersklassen B, C, D die Fälle von Altersschwäche.

Treffer liegen zwischen 1,5 mg und 2,0 mg, damit 33 % über dem Werte, der als allgemeiner (hoher) Durchschnitt gelten darf. Von den restlichen 67 % fällt die Hälfte (33 % der ganzen Reihe) auf den Bereich von 1,2 mg bis 1,5 mg, ein Drittel (20 % der Reihe) auf denjenigen von 1,0 mg bis 1,2 mg, während der Rest (14 % der Reihe) unter 1,0 mg Kreatinin für 100 ccm Blut bleibt und zumeist um 0,8 mg bis 0,9 mg sich bewegt.

Die Tabelle — Altersklasse vom 50. bis 60. Lebensjahre, gesunde oder geheilte[1]) Männer, Umfang 100 Personen — zeigt 12 % der Treffer (12 Fälle mit 3 mal 2,1 mg, 5 mal 2,2 mg, 1 mal 2,3 mg, 1 mal 2,4 mg Kreatinin für 100 ccm Vollblut) über 2,0 mg; 37 % erfüllen den Bereich von 1,5 mg bis 2,0 mg; damit liegen also 49 % der Treffer (d. i. die Hälfte der gesamten Reihe) über 1,5 mg Kreatinin für 100 ccm Blut. Die

Tabelle III.

Kreatinin und Kreatin im Blute gesunder (und geheilter) Männer (D).

Altersstufe 60 bis 70 Jahre.
mg in 100 ccm Blut.

Anzahl der untersuchten Fälle (gesamt 50)		Kreatinin		Kreatin[2])
absolut	prozentisch	frei (präformiert)	gesamt[1]) + Kreatin-Kreatinin	
7	18	unter 1,0	6,5	6,2
5	10	1,0—1,2	6,6	6,5
10	20	1,2—1,5	6,9	6,5
18	36	1,5—2,0	6,8	6,8
7	14	2,0—2,5[4])	8,5	7,2
1	2[3])	2,5 und mehr	8,8	6,4

Bemerkungen: Prozentzahlen abgerundet. Kreatinbestimmung in 31 Fällen durchgeführt.

[1]) Angaben als Reihendurchschnitte. Extreme (für die Gesamttabelle) 5,0 bis 10,1.

[2]) Angaben als Reihendurchschnitte. Extreme (für die Gesamttabelle) 5,2 bis 10,2.

[3]) 2,5 mg.

[4]) 3 mal 2,1 mg, 2 mal 2,2 mg, 2 mal 2,3 mg.

---

[1]) Unter diese Angaben fallen frühere Begriffe, in die Altersklasse C die Fälle von Altersschwäche.

restliche Hälfte gliedert sich, beurteilt in Prozenten der Reihe so, daß 21% zwischen 1,2 und 1,5 mg, 18% zwischen 1,0 und 1,2 mg, 11% unter 1,0 mg (nur Werte von 0,8 mg — 4 Fälle — und 0,9 mg — 7 Fälle) liegen.

Die Tabelle — Altersklasse vom 60. bis 70. Lebensjahre, gesunde und geheilte[1]) Männer, Umfang 50 Personen — zeigt 14% (7 Fälle) über 2,0 mg Kreatinin für 100 ccm Blut (3 mal 2,1 mg, 2 mal 2,2 mg, 2 mal 2,3 mg), 36% über 1,5 mg bis 2,0 mg, damit 50%, die Hälfte der ganzen Reihe über 1,5 mg. Der Rest gliedert sich nach den Zahlen der Reihe so, daß 20% zwischen 1,2 und 1,5 mg, 10% zwischen 1,0 und 1,2 mg, 18% unter 1,0 mg liegen (3 mal 0,6 mg, 4 mal 0,7 mg, 8 mal 0,8 mg, 6 mal 0,9 mg Kreatinin für 100 ccm Blut). 1 Fall zeigt 2,5 mg Kreatinin für 100 ccm Blut.

Tabelle IV.

Kreatinin und Kreatin im Blute gesunder (und geheilter) Männer (E).

Altersstufe 70 bis 80 Jahre (4 Fälle darüber hinaus).

mg in 100 ccm Blut.

Anzahl der untersuchten Fälle (gesamt 33)		Kreatinin		Kreatin[2])
absolut	prozentisch	frei (präformiert)	gesamt[1]) + Kreatin-Kreatinin	
6	18	unter 1,0	6,3	5,7
5	15	1,0—1,2	7,2	7,0
3	10	1,2—1,5	6,7	6,8
11	33	1,5—2,0	8,2	7,8
8	24[3])	2,0—2,5	9,4	9,5
0	0	2,5 u. darüber	0	0

Bemerkungen: Prozentzahlen abgerundet. Kreatininbestimmung in 21 Fällen.

[1]) Angaben als Reihendurchschnitte. Extreme (für die Gesamttabelle) 4,7 und 10,6.

[2]) Angaben als Reihendurchschnitte. Extreme (für die Gesamttabelle) 4,6 und 10,8.

[3]) 3 mal 2,1 mg, 2 mal 2,2 mg, 3 mal 2,3 mg, 1 mal 2,4 mg.

Die Tabelle — Altersklasse vom 70. bis 80. Lebensjahre, darüber nur 4 Fälle, gesunde und geheilte[2]) Männer, Umfang

---

[1]) Unter diese Angaben fallen frühere Begriffe, in die Altersklasse D die Fälle von Altersschwäche.

[2]) Unter diese Angaben fallen frühere Begriffe.

33 Personen — zeigt 24 % (8 Fälle) mit Werten über 2,0 mg Kreatinin für 100 ccm Vollblut (3 mal 2,1 mg, 2 mal 2,0 mg, 2 mal 2,3 mg, 1 mal 2,4 mg), 33 % erfüllen den Bereich zwischen 1,5 und 2,0 mg; damit liegen 54 % der Reihe (rd. die Hälfte) über 1,5 mg. Der Rest — in Gliederung nach der ganzen Reihe — fällt zu 10 % in den Bereich von 1,2 mg bis 1,5 mg, 15 % zwischen 1,0 mg und 1,2 mg, 18 % unter 1,0 mg (3 mal 0,5 mg, 4 mal 0,6 mg, 3 mal 0,7 mg, 4 mal 0,8 mg, 2 mal 0,9 mg).

Befunde.

Für alle vorstehenden, in den Altersklassen (40 bis 80 Jahre und darüber) gruppierten Befunde läßt sich die Auswertung der Kreatinzahlen nur schwieriger durchführen, weil sie aus äußeren Gründen nicht detailliert gegeben (kaum in der gewählten tabellarischen Aufstellung formulierbar) sind. Es wird auf die Erörterung der fraglichen Verhältnisse an dieser Stelle, die in erster Reihe den Graden der Kreatininämie Raum bieten soll, verzichtet, da die Gelegenheit, lückenlos und parallel Kreatinanalysen durchzuführen, meist aus äußeren Gründen (Blutmengen, verfügbare Arbeitskräfte) fehlte. Jedoch soll auf die vorhandenen Befunde, die ja nach Durchschnitten und Extremen vorstehend gewertet worden sind, später eingegangen werden, wenn geeignete Parallelstellungen im RN- und Zuckergebiete nach den Ergebnissen besprochen werden. Aus den sonst möglichen Gesichtspunkten zur fraglichen Beurteilung der Kreatininbefunde, insonderheit zu Fällen von Altersschwäche, der a. a. O. näher gegebenen Bezeichnung, sei genannt, daß mehrfach (nach Mikro-Bang; in 1916) Grenzwerte und leichte Steigungen des Blutzuckers eine Rolle spielten, und daß die genauere Harnanalyse mehrfach auf höheren physiologischen Zucker, sonst auch auf Abwandlungen der Chromogene (geringgradige Ausschläge) stieß.

Zu den im Rahmen der vorstehenden Mitteilung etwaiger Erörterungen nicht fähigen Fragen gehörten die folgenden. Aus äußeren Gründen wird, wie gesagt, auf detaillierte klinisch-funktionelle Untersuchungsergebnisse nicht zurückgegriffen, aber betont, daß es sich nirgends um Beobachtungen handelte, die uns berechtigen würden, bedingt pathologische Kreatininämien vorauszusetzen. Die Rücksicht auf solche war

das leitende Prinzip bei der Auswahl unserer Fälle für die vorliegende Statistik von Grundlagen des physiologischen Vorkommens. Was Parallelbefunde aus Analysen zum Gebiete des Reststickstoffs im Blute angeht, so kann ebenfalls aus Gründen der Übersichtlichkeit nur auf die etwa gleichzeitigen Untersuchungen des Verf. über den Gesamt-RN, über dessen $\overset{+}{\mathrm{U}}$r-N sowie über die Zuordnung der Hauptfraktion der komplexen Größe usw. verwiesen werden. Es handelt sich zum Teil um dieselben Fälle; vorliegende Statistik ist — äußere Voraussetzungen der Erreichbarkeit von Blutproben — die engere. Es wurde im Anschlusse an frühere Vorstellungen von Folin und Bang vom Verf. erwogen, ob die Frage des mit steigendem Alter vielleicht steigenden Gesamtreststickstoffs mit Erfolg auf den Schlackenanteil übertragen werden könne[1]). Die Beobachtungsreihen lehrten einmal zweifelsfrei Erhöhungen im Nichteiweißstickstoff kennen; später ließ sich gleiches für den Harnstoff erhärten, wobei die Ausschläge anscheinend größer wurden. Wir hätten uns also hier vor der Frage gesehen, Kreatinin und Harnstoff vergleichend und gegensätzlich zu prüfen in dem Sinn, ob beide Schlackenstoffe proportional der Retention unterliegen können. Darüber läßt sich kurz andeuten, daß keine grundsätzliche Übereinstimmung gewonnen wurde, die dieser Anschauung Unterlagen bieten könnte. Die Altersklassen (oberhalb 60 Jahre) wurden dann nach den eigentlichen Fällen von Altersschwäche durchmustert, letztere zusammengestellt und betrachtet. Dabei ergab sich auch nur in $62\,^0/_0$ der Fälle ein Zusammengehen erhöhter $\overset{+}{\mathrm{U}}$rN- und Kreatininwerte, wobei natürlich große Schwierigkeiten in der Auswahl bemerkt wurden. Doch kamen auch hohe $\overset{+}{\mathrm{U}}$rN-Zahlen mit extrem niedrigen für Kreatinin in Zusammenhang. Danach muß hier wohl zunächst gesagt werden, daß sich eine systematische Auffassung hierüber bisher nicht konstruieren läßt, zu einem Teile, weil es an der Möglichkeit eines festen, statistischen Schemas fehlt. Zum anderen Teile ist jedoch hervorzuheben, daß zwischen den Verhältnissen des $\overset{+}{\mathrm{U}}$rN-Bestandes und der Kreatininämie weitgehende Ver-

[1]) Joh. Feigl l. c. (Über Kreatinin. II) 1918, 2. Abschnitt.

schiedenheiten bestehen dürften, die nicht ohne weiteres klärbar sind, und deren Erörterung vom Blut auf die Chemie des Harns erwiesen wird, bzw. auf die Parallelbetrachtung beider und die in den spezifischen Zügen des Stoffwechsels von Kreatinin und Kreatin ihren Grund findet. Zu diesem Ende haben wir auch die Kreatinfrage, die u. E. durch die Beziehung zum Kreatinin führend werden kann, mit aufgenommen. Doch handelt es sich hier um Verhältnisse, die Gegenstand eigener Erörterung bilden müssen. Vorstehende Zeilen sind nicht den biologischen und pathologischen Grundlagen und Ursachen der Kreatininämie und Kreatinämie gewidmet, sondern der Frage nach ihrem (statistischen) Vorkommen mit Rücksicht auf praktische Ziele und gesicherte Vorstellungen[1]). Die angedeuteten Verknüpfungen werden am ehesten bei Fällen von physiologischer Kreatinurie, nach unseren Erfahrungen an Kindern, zu Ausschlägen führen können. Die Betrachtung von Beobachtungsergebnissen zu Fällen mit pathologischen Einschlägen, zu denen die genannten Alterserscheinungen u. a. zu rechnen sein dürften, darunter alle pathologisch-physiologischen und alimentär extremen (Herabsetzung des Stoffwechsels bis zur Inanition) Vorkommnisse, stößt in vieler Hinsicht auf namhafte Schwierigkeiten da, wo es sich darum handelt, selbst einfache Fragen der biochemischen Analyse zu klären. Wir denken an die Grenzfälle der Zusammensetzung von Blut und Harn in bezug auf Zucker (und sonstige Kohlenhydrate, Glycuronsäure, reduzierende Stoffe), Chromogene, N-Verteilung, Salzzusammensetzung, Reaktion usw.[2]) Hier sind ganz erhebliche, durch die Kriegsverhältnisse ungemein erschwerte Aufgaben zu lösen, die unter gewissen Gesichtspunkten keiner bisherigen Grundlagen sich erfreuen. Den grobklinischen Begriff des Ausfalls bestimmter Proben einzuführen und auf ihn zu bauen, geht nicht überall an. Dasselbe gilt von klinischen

---

[1]) Wünschenswert sind namentlich in der Pathologie detaillierte Analysen (Folin, Myers, Woods, Feigl).

[2]) Joh. Feigl, Untersuchungen an Hamburger Schulkindern (10000) in verschiedenen Fristen während der Kriegszeit. Hambg. Ärzte-Corresp. **1918**. Nach Shaffer ist an den Zustand des Muskelsystems zu denken. Herabsetzung der endogenen Ausscheidung dieser Senkung des Kreatininspiegels im Blute möglich. Deutung niederer Werte.

Untersuchungsmethoden und von den Einflüssen allgemeiner, besonders alimentärer Fragen usw. Wir werden deshalb dem Übergewicht von Befunden aus der späteren Kriegszeit in Statistiken solcherart mit Rücksicht auf eigentliche normale Verhältnisse gewisses Mißtrauen entgegenbringen und ihre Lehren als die Ergebnisse von Ausnahmezuständen (mittelbar oder direkt), geradezu als pathologisch-physiologisch betrachten dürfen. In unseren Statistiken überwiegen (von 56 % bis 79 % der Einzelfälle in den Altersklassen B, C, D, E) friedensmäßig determinierte Verhältnisse, die bis in den Anfang 1917 hineinreichen. Der Rest erfreute sich bestimmter Diätzulagen. Wir sehen unser Material im allgemeinen als normal an und als frei von den herabstimmenden Einflüssen der Kriegszeit. Durchmusterungen in diesem Sinne führten nicht zu Bedenken gegenüber hohen oder niedrigen Einzelzahlen, wie gegen abnorme Verhältnisse zwischen Kreatinin und Kreatin. Die Fragen der Acetonkörper, des Cholesterins und der Fette und Lipoide schließen sich hier engstens an und finden spätere Gelegenheit zur Besprechung auf Grund gesammelter Befunde der Friedens- und Kriegszeit. Die Urikämie und Purinverteilung im Blute ist eine Frage für sich. Eigentlich hämatologisch-(cytologisch-)chemische wie physikalisch-chemische Konstanten (Dichte, Wassergehalt besonders usw.) haben nach bisherigen Erfahrungen keinen direkten Einfluß auf die allgemeinen Zahlen für Kreatinin und Kreatin, wohl aber einen mittelbaren, der gegensätzliche Anordnung von Befunden erkennen läßt.

Mit den entwickelten Gesichtspunkten für zur Zeit begrenzte Kritik- und Beurteilungsmöglichkeit von Grenzbefunden an Blut und Harn sowie mit der ausreichend belegten Auffassung, daß wir im obigen ein „normales“, nicht ein (durch Kriegsverhältnisse alimentär usw. herabgestimmtes) „gestörtes“ Material vor uns haben, treten wir nun an die vergleichende Erörterung unserer jetzigen (neuen) Ergebnisse heran.

Wie ersichtlich, differieren die Statistiken in Hinsicht auf die Trefferverteilung in den Gruppen der Kreatininwerte stark. Das zeigt auch die Sammeltabelle V [s. dort[1])]. Am ersicht-

---

[1]) Tab. III (50 gesunde Männer), Tab. IV (50 geheilte Männer) bzw. Tab. VIII (Zusammenfassung) l. c. (Über Kreatinin I) 1917, Seite 46, 47,

lichsten ist die vom Verf. a. a. O. veranschaulichte Tatsache, daß im Alter nicht lediglich Erhöhungen auftreten, sondern daß vor allem das Bild der Gesamtheit ein unkonstantes wird, wobei die Mittelzahlen relativ zurückgehen, und untere wie obere Extreme sich anreichern. Ob man für beide bestimmende Faktoren bei fernerer Untersuchung der einschlägigen Beziehungen würde erkennen und begründen können, scheint möglich, doch zur Zeit noch fraglich. Verf. neigt dazu, diese Inkonstanz, die bei größeren Reihen in die Erscheinung tritt, für einen bezeichnenden Zug zu halten, den man bei Zusammenstellungen über die pathologische Physiologie des Alters wiederfindet. Einerlei, sowohl die hohen wie die niederen Zahlen für $\overset{+}{\mathrm{Ur}}$, die Aminosäuren, Kreatinin und Kreatin im Blute müssen bestimmten Abartungen (gegensätzlicher Natur) entsprechen, die vielleicht noch normal für das Gesamtbild sein können. Die Befunde ordnen sich anscheinend unter die allgemeine Tatsache, daß im Alter häufige und verschieden gerichtete Ablenkungen und Schäden des Stoffwechsels sich zeigen; daher die relativ geringe Einheitlichkeit verglichen mit den Mannesjahren. Die Frage der Kreatinämie bei Ruhestoffwechsel (Bett) und üblicher wie energischer Arbeitsleistung greift auch hier ein, kann aber in typischen Ausschlägen hier nach unserer Erfahrung nicht gelöst werden. Die Vergleichsbetrachtung der Kreatinämie wird hier, wie gesagt, nicht durchführbar.

Nehmen wir die jetzigen Ergebnisse vergleichend zusammen mit denen der früheren Untersuchungsreihen, so bedienen wir uns hier der Übersicht in der Sammeltabelle V. Sie umfaßt die zwei Stufen von Jugendlichen (s. dort), die Gruppe gesunder Männer (Alter bis 42 Jahre) (s. dort), die entsprechende Gruppe geheilter Männer (s. dort), die wir A_1 und A_2 bezeichnen sowie die heute beschriebenen Alterklassen B (vom 40. bis 50. Jahre), C (vom 50. bis 60. Jahre), D (vom 60. bis 70. Jahre), E (vom 70. bis 80. Jahre). Einleitend heben wir die verschiedenen Anzahlen von Fällen in den verschiedenen Abschnitten in Hinsicht auf die statistische Vergleichbarkeit der Treffererergebnisse gebührend hervor, er-

---

50, sowie Tab. VII ebda. Seite 48; Tab. I (36 Kinder), Tab. II (30 Jugendliche), Tab. III (Zusammenfassung) l. c. (Über Kreatinin II) 1917, Seite 266.

blicken in ihr aber kaum eine wesentliche Einschränkung der Stichhaltigkeit unserer Aufstellung.

Tabelle V (Sammeltabelle).

Kreatinin und Kreatin im Blute gesunder (und geheilter) Menschen (Jugendliche, erwachsene Männer und Altersklassen bis 80 Jahre).

Zusammenfassung der Ergebnisse aus Tab. I, II, III, IV und der entsprechenden Aufstellung in Tab. III der früheren Arbeit (II. Mitteilung), darin also die Tab. I und II sowie die Tab. III und IV der früheren Arbeit (I. Mitteilung).

Stufenweise Verteilung absolut und prozentisch.

mg Kreatinin in 100 ccm Blut.

Herkunft und Alter	Gesamt-anzahl	unter 1,0		1,0—1,2		1,2—1,5		1,5—2,0		2,0—2,5		2,5 u. mehr	
		absolut	%	absolut	%	absolut	%	absolut	%	absolut	%	absolut	%
Tab. I, Kinder-Gruppe A, unt. 10 Jahren . .	36	15	42	15	42	6	17	0	0	0	0	0	0
Tab. II, Kinder-Gruppe B, unt. 15 Jahren . .	30	10	33,3	10	33,3	9	30,0	1	3,3	0	0	0	0
Tab. III, Männer (gesunde) A_1 .	50	5	10	12	24	20	40	9	18	4	8	0	0
Tab. IV, Männer (geheilte) A_2 .	50	6	12	8	16	16	32	14	28	6	12	0	0
Tab. I, Männer 40—50 Jahre B	72	6	14	14	19	24	33	20	27	4	6	0	0
Tab. II, Männer 50—60 Jahre C	100	11	11	18	18	21	21	27	37	12	12	1	1
Tab. III, Männer 60—70 Jahre D	50	9	18	5	10	10	20	18	36	7	14	1	2
Tab. IV, Männer 70—80 Jahre E	50	10	20	6	12	6	12	18	36	9	18	2	4

Aus ihr wird die Staffelung der Befunde durch die prozentische Verteilung auf die einzelnen Grade des Kreatiningehaltes ersichtlich. Die Stufe 2,5 mg Kreatinin für 100 ccm Blut und mehr findet sich in den drei Altersklassen C, D, E mit bezüglich 1%, 2%, 4% der Reihe. Die Stufe 2,0 mg bis 2,5 mg findet sich bei den gesunden (Tab. III, I. Mitteilung 1917) und geheilten (Tab. IV ebenda) Männern sowie in der Altersklassen A, B, C, D, E mit bezüglich 8%, 12%, 6%, 12%, 14%, 18% der Reihen. Beide fehlen in den zwei Klassen

der Jugendlichen. Die niedrigste Stufe, Kreatinin für 100 ccm Blut 1,0 mg und weniger, ist bei den Jugendlichen mit 42 % (Gruppe A) und 33,3 % (Gruppe B) vertreten. Bei den gesunden und den geheilten Männern (A_1, A_2) mit 10 % bzw. 12 %, in den Altersklassen B, C, D, E mit bezüglich 14 %, 11 %, 18 %, 24 %. Danach ergibt sich für die oberen Grenzstufen ein vorzugsweises Vorkommen im Alter. Werte über 2,0 mg bei gesunden Männern erscheinen um 8 %, in der heutigen Tabelle, Altersklasse B mit 6 %. Ihr Vorkommen beim gesunden, nüchternen Manne ist daher endgültig sichergestellt, wennschon in geringer Anzahl. Die niedere Grenzreihe zeigt ein eigenartiges Verhalten. Die gesunden Männer mittleren Alters — Stufen A_1, A_2, B, C zeigen prozentische Treffer von 10, bzw. 12, bzw. 14, bzw. 11 — runder Durchschnitt 12 % —. Bei alten Männern und Greisen steigt diese Gruppe nach den prozentischen Treffern erheblich, 18 % (D), 20 % (E); bei Kindern findet sich der höchste Anteil, 42 % bzw. 33 %. Nach diesen kritischen Befunden der Grenzreihen gestalten sich die Zahlen der Mittelstufen. Es liegen über 1,5 mg bis 2,0 mg Kreatinin für 100 ccm Blut: Kinder A 0 %, Kinder B 3,3 %, Männer A_1 18 %, Männer A_2 28 %, Männer B 27 %, Männer C 37 %, Männer D 36 %, Männer E 36 % — also Vorhandensein dieser Werte (cf. Rosenbergs bestrittene Angaben!) und Anstieg mit dem Alter. Die weitere Ausgestaltung von Schlüssen aus der Tabelle sei unterlassen; Hinweis verdient die (cf. Rosenberg!) (etwaige) Zusammenziehung aller Zahlen über 1,5 mg. Es zeigen sich also in den Altersklassen erhebliche Differenzen, wenn die Kreatininskala mit prozentischer Verteilung der Treffer größerer Reihen verknüpft wird. Eine Auflösung der Stufe 1,5 mg bis 2,0 mg scheint u. U. förderlich. Notwendig ist weitere Sammelarbeit.

Schlußsätze.

In der vorstehenden III. Mitteilung einer Serie von Arbeiten über das Vorkommen von Kreatinin und Kreatin im Blute bei Gesunden und Kranken wird über Ergebnisse berichtet, die im Verfolg früherer Beobachtungen den Kenntnissen über das physiologische Vorkommen dieser Stoffe zugute kommen sollen.

Nachdem bisherige Untersuchungen an gesunden (und ge-

heilten) Männern (I. Mitteilung 1917) wie an Kindern und Jugendlichen (II. Mitteilung 1918) mit Rücksicht auf die normalen Nüchternwerte (Grenzen, Durchschnitte, Verteilung der Befunde auf eine Skala nach Stufen) angestellt wurden, die später durch Einbeziehung von Fragen der pathologischen Physiologie (I. Mitteilung 1917 sowie Untersuchungen über Marschanstrengungen 1916 und 1918) sich erweitern ließen, sollten die Verhältnisse bei steigendem Lebensalter näher gekennzeichnet werden.

Den Anstoß zu dieser Aufgabe bieten die praktischen Forderungen der Diagnostik; die Vermittlung schufen ältere, vermeintlich geklärte (O. Folin), dann wieder umstrittene, wennschon für möglich erachtete (I. Bang) Vorstellungen über das Verhalten des gesamten Reststickstoffs. Verf. übertrug diese Frage auf den Schlackenanteil des RN und belegte in großen Reihen (1918) die Tatsache, daß im höheren Alter physiologisch der Nichtproteinstickstoff wie der Harnstoff die Grenzen der allgemeinen Norm überschreiten können. Ähnliche Verhältnisse kommen im Bereiche der Kreatininämie vor. Doch zeigen sich ganz allgemein inkonstante und abweichende Staffelungen der Befunde.

Durchschnitte, untere und obere Grenzwerte, Verteilung der Befunde nach Stufen werden für Altersklassen vom 5. bis zum 80. Lebensjahre in schematischer Anordnung gegeben; diese zeigt weitgehende, der praktischen Anwendung der Kreatininämie zugute kommende Differenzen, nach denen pathologische Befunde beurteilt werden können. In der Statistik fehlt bisher noch das frühe Kindesalter.

Die Theorie des vorliegenden Gebietes wird kurz erörtert, namentlich in Hinsicht auf Erweiterungen und Präzisierungen der bisherigen Ergebnisse.

Die Befunde für den Kreatingehalt des Blutes decken sich an Zahl nicht ganz mit denen für das Kreatinin. Ihre nähere Beurteilung wird einstweilen zurückgestellt. Kreatinin und Kreatin beanspruchen methodisches und systematisches Interesse im Gebiete des RN und der Reduktionsgrößen [Zucker][1]).

[1]) Joh. Feigl, Gesamtreduktion und Restreduktion des Blutes in Beziehung zu den reduzierenden Komponenten der Blutflüssigkeit usw.

Die zur Charakterisierung und Prüfung der in die Statistik aufgenommenen Fälle beschrittenen Wege waren die gleichen, wie in den nahestehenden Mitteilungen des Verf. Die Abwägung einzelner Faktoren wird gestreift.

Die Untersuchungen, bei denen Verf. freundliche Unterstützung durch die Herren Oberärzte usw. der Anstalt sowie anderer hiesigen Institute fand, werden in der angedeuteten Richtung ergänzt und fortgeführt.

Diese Zeitschr. 77, 3/4, 159 bis 232, und die ferneren zit. Mitteilungen (1917, 1918) „Scheinbare Hyperglykämie". — O. Schumm, Über die Restreduktion des Blutes, Zeitschr. f. physiol. Chem. **100**, 3/4, 215 bis 220, 1917. Sch. übernimmt nach den Wandlungen, die seine ehemalige Restreduktion (Grießbach u. Straßner) durchmachte, den Standpunkt des Verf. auch für praktische Aufgaben.

Übrigens sei ein Kuriosum genannt. Die erste Arbeit über Kreatininämie usw. von O. Folin (Journ. of Biol. Chem. **17**, 475 1914,) wird erst 1917, 15. Nov., in der Zeitschr. für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel referiert (M. Müller.) Wir verweisen auf die Unsummen inzwischen geleisteter kritischer und beschreibender Arbeit, durch die die ersten Angaben bereits weit überholt sind, und auf Folgen solcher Rückständigkeit.

Über die colorimetrische Bestimmung des Hämoglobins als Säurehämatin.

Von

Ladislaus Berczeller.

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien. — Vorstand: Oberstabsarzt Prof. Dr. R. Doerr.)

(Eingegangen am 8. Dezember 1917.)

Untersuchungen über die Technik, den Mechanismus und das Wesen der Wassermannschen Reaktion ließen es mir als erwünscht erscheinen, für das sichtbare Ergebnis der Reaktion, d. h. für den Grad der erfolgten Hemmung der Hämolyse einen ziffernmäßigen, den Zwecken exakter Messung entsprechenden Ausdruck zu verwenden. In der Praxis begnügt man sich damit, die Extreme der Reaktion als komplette Hemmung und komplette Hämolyse zu bezeichnen und die zwischen diese Grenzwerte interpolierten unvollkommenen Hämolysen als „Spur Hämolyse", „geringe, mäßige, starke, fast komplette Hämolyse" oder in ähnlicher Art sprachlich zu charakterisieren. Ein gangbarer Weg, um zu genaueren Angaben zu gelangen, besteht darin, daß man die Menge des in Lösung getretenen Hämoglobins in möglichst einfacher und wenig zeitraubender Weise, also mit einem colorimetrischen Verfahren direkt bestimmt.

Selbstverständlich ist die Anwendung solcher Hb-Messungen an gewisse Voraussetzungen geknüpft, von welchen eine, die Konstanz des Reaktionsvolumens, bei den gebräuchlichen Methoden der Wassermannschen Reaktion von vornherein erfüllt erscheint. Weiter erweist es sich als notwendig, immer mit den gleichen Mengen von Erythrocyten und mit Erythrocyten von gleichem Hb-Gehalt zu arbeiten. Letzterer Forderung wird man besser entsprechen, wenn man das Hammelblut jedesmal frisch vom Schlachthofe bezieht, als wenn

man die Blutentnahme stets bei demselben im Laboratorium gehaltenen Hammel bewerkstelligt; die Folgen der systematischen Anämisierung müssen sich besonders bei älteren Tieren mit der Zeit bemerkbar machen. Übrigens hat man es ja in der Hand, diese Fehlerquelle auszuschalten, indem man den Hb-Gehalt der jeweils benutzten Blutproben mit Hilfe der gewählten Technik vor den eigentlichen Versuchen feststellt. Dagegen wäre es unmöglich, gleiche Erythrocytenmengen in die einzelnen Reagensröhrchen einzufüllen, wenn man sich bei der Herstellung der Erythrocytensuspensionen an die in allen Laboratorien übliche Vorschrift halten würde. Bekanntlich wird das aus der Vene ausströmende Blut in Glasflaschen aufgefangen, durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert und von den Gerinnseln durch Kolieren befreit; von dem defibrinierten Blut mißt man ein beliebiges Quantum in ein Zentrifugenglas, markiert das obere Flüssigkeitsniveau mit Fettstift und entfernt nun das Serum durch den Waschprozeß. Nach der letzten Waschung wird auf den Erythrocytensatz NaCl-Lösung bis zur Marke aufgegossen und diese Stammsuspension als 100 %ige Aufschwemmung betrachtet, von der man die notwendigen 5 %igen Verdünnungen durch Zusatz der 20fachen Menge NaCl-Lösung gewinnt. Es läßt sich jedoch leicht zeigen, daß die dergestalt aus verschiedenen Blutproben erzeugten „5 %“-Erythrocytensuspensionen in ihrer Dichtigkeit außerordentlich variieren, weil der Defibrinierakt aus dem Vollblut durchaus nicht immer den gleichen Anteil der Erythrocyten entfernt; defibriniertes Hammelblut enthält also je nach der Art des Defibrinierens, die man auch beim besten Willen nie gleichmäßig gestalten kann, wechselnde Erythrocytenmengen, und es ist daher ein Fehler, das Volumen des defibrinierten Blutes zur Basis für die Berechnung der Dichtigkeit der Suspensionen zu machen. Um gleichmäßige Suspensionen zu erhalten, könnte man die Erythrocyten zählen und gefundene Differenzen durch Verdünnung ausgleichen; als weniger mühevoll und für den angestrebten Zweck auch ausreichend erwies es sich, die Erythrocyten nach dem letzten Waschen scharf und anhaltend zu zentrifugieren (bei gleichgehaltener Zeit und Tourenzahl) und vom Volumen des Sedimentes bei der Herstellung der Verdünnungen auszugeben. Auch lassen sich

gleiche Suspensionen mit einer für praktisch serologische Arbeiten (Wa.-Reaktion) genügenden Genauigkeit darstellen, wenn man das übliche Papierhämoglobinometer zur Messung benutzt und die Differenzen durch Verdünnung kompensiert. Ich werde auf diese Einzelheiten, die für die serologische Technik allgemeinere Bedeutung besitzen, noch an anderer Stelle zurückkommen und bemerke nur, daß es mir **in dieser Arbeit nicht** auf die Herstellung gleicher Suspensionen für verschiedene Versuchsreihen ankam, da lediglich der Vergleich der Werte innerhalb einer Reihe für meine Schlüsse maßgebend war. Daher wird man bei den als „5 $^0/_0$ig" bezeichneten Suspensionen in verschiedenen Reihen ziemlich differente Zahlen auch unter sonst gleichen Bedingungen finden.

Schließlich war auch die Methode der colorimetrischen Hb-Bestimmung in Erwägung zu ziehen. Es stehen hier nicht nur verschiedene Apparaturen (Gowers-Sahli, Fleischl-Miescher, Autenrieth) zu Gebote; man hat auch die Wahl, ob man das Hb als solches (bzw. O-Hb), als CO-Hb (Hoppe-Seyler) oder als Säurehämatin bestimmen will. Die verschiedenen Verfahren liefern nicht immer parallel gehende Werte (siehe Abderhalden, Biochem. Handlexikon, Art. über die Bestimmung des Hb), sind mit verschiedenen Vorzügen und Nachteilen behaftet und von anderen intervenierenden Faktoren nicht im gleichen Ausmaße beeinflußt. Bei den einschlägigen Vorversuchen, welche mir die Entscheidung zugunsten einer bestimmten Technik der colorimetrischen Messung des Hb ermöglichen sollten, ergab nun die Analyse der Säurehämatinmethode eine Reihe von an sich bemerkenswerten Resultaten, die den Inhalt dieser Veröffentlichung bilden.

Das Säurehämatin wurde durch Zusatz von $^n/_{10}$-HCl zu einer 5 $^0/_0$ Suspension von Hammelblutkörperchen gewonnen. Die colorimetrische Bestimmung des Hämatingehaltes erfolgte mit dem Authenriethschen Colorimeter, dessen brauner Keil sich hierfür vorzüglich eignete; die konstant bleibende Farbe der im Keil enthaltenen Testflüssigkeit entspricht vollständig jener der Hämatinlösungen und ermöglicht eine sehr genaue Einstellung des Keils, so daß die Ablesungen durch denselben oder durch verschiedene Beobachter nur innerhalb geringer Fehlergrenzen schwanken.

Tabelle I soll diese Exaktheit der Bestimmungen unter gleichen äußeren Bedingungen ersichtlich machen. Jedes Röhrchen enthielt je 1 ccm einer $^n/_{10}$-HCl-Lösung und fallende Mengen einer 5 % Hammelblutsuspension; das Reaktionsvolum betrug stets 2 ccm. Die letzten zwei Vertikalkolumnen geben die am Authenriethschen Colorimeter abgelesenen Skalenteile an, und zwar die vorletzte für den Fall, daß zuerst die Erythrocytensuspension, dann das NaCl und zuletzt die HCl eingefüllt wurde, die letzte für die Reihenfolge HCl, NaCl plus Erythrocytenaufschwemmung.

Tabelle I.

Vers. 1. Skalenteile

5 % gewaschene Hammelblutsuspension ccm	Phys. NaCl-Lösung ccm	$^n/_{10}$-HCl	Erst Blutkörperchensuspension abgemessen	Erst $^n/_{10}$-HCl abgemessen
0,6	0,4	1 ccm zu jedem Röhrchen	27,6	26,0
0,5	0,5		39,0	39,0
0,4	0,6		54,6	54,0
0,3	0,7		66,0	65,0
0,2	0,8		76,5	76,0
0,1	0,9		88,5	88,0

Die erhaltenen Werte zeigten demnach eine fast vollkommene Übereinstimmung.

Werden die Hämatinlösungen aus derselben Blutprobe unter sonst identischen Bedingungen, aber zu verschiedenen Zeiten (nach verschieden langem Stehen der Blutprobe) dargestellt, so erhält man ebenfalls Ablesungen, die nur wenig differieren (Tabelle II); Suspensionen von gleichem Hb-Gehalt liefern also unabhängig von ihrem Alter und der Art des Zusatzes bestimmter Säurequanten (Tabelle I) gleiche Hämatin-

Tabelle II.

Reproduzierbarkeit der Farbenstärke der Hämatinlösungen.

5 % Hammelblutsuspension ccm	Phys. NaCl ccm	$^n/_{10}$-HCl	I.	II.	III.
0,5	0,5	1 ccm $^n/_{10}$-HCl	28	28,6	29,5
0,4	0,6		43,3	44,0	41,0
0,2	0,8		67,5	69,6	—
0,1	0,9		84,6	84,0	83,3

I. bzw. II. bzw. III. bedeuten zu verschiedenen Zeiten bereitete Mischungen aus demselben Blute.

mengen oder wenigstens Hämatinlösungen von gleicher Färbekraft.

In den vorstehenden Versuchen wurde die Dauer der Säureeinwirkung (das Intervall zwischen Säurezusatz und Ablesung) konstant gehalten und konform den üblichen Vorschriften mit 5 Minuten bemessen. Variiert man diesen Faktor, so kommt sofort ein Nachteil der Methodik zum Vorschein, indem die am Colorimeter meßbaren Hämatinwerte mit der Dauer der Säurewirkung wachsen; so kann man z. B. aus 0,4 ccm nach 45′ etwas mehr Hämatin bekommen als aus 0,5 ccm, wenn man auf letztere Menge die Säure nur so lange einwirken läßt, bis die Mischung klar wird und dann sofort abliest. Je konzentrierter die Erythrocytensuspension, desto mehr macht sich dieses Moment geltend. Selbst nach 45 Minuten ist die Veränderung nicht abgeschlossen, sondern schreitet allmählich, wenn auch langsam, weiter. Etwa innerhalb von 12 bis 24 Stunden nach dem Säurezusatz scheiden die konzentrierten Lösungen einen Bodensatz ab.

Tabelle III.

a) Veränderlichkeit der Farbenstärke der Hämatinlösungen mit der Zeit.

5% Hammelblutsuspension ccm	Phys. NaCl ccm	n/10·HCl	Skalenteile sofort[1])	nach 45 Min.	nach 3 Stunden
0,5	0,5		44,0	28,6	25,3
0,4	0,6	1 ccm	55,5	42,6	37,6
0,3	0,7	zu jedem	62,5	55,0	49,8
0,2	0,8	Röhrchen	75,0	69,0	66,3
0,1	0,9		85,2	84,5	

Da es aber immerhin dem Untersucher freisteht, die Ablesung stets nach gleichen Zeiten vorzunehmen und die Skala des Colorimeters dementsprechend zu kalibrieren, so ließe sich diese Fehlerquelle ausschalten. Störender wirkt die Tatsache, daß die Bildung des Säurehämatins durch die Anwesenheit anderer Stoffe oder Stoffgemenge im Reaktionsvolum erheblich beeinflußt wird, speziell auch durch jene Substanzen, welche man beim Ansetzen der Wassermannschen Probe zum hämolytischen System hinzufügt.

[1]) Die erste Ablesung geschieht, wenn die Lösung nicht mehr trüb ist.

1. Wirkung von äthylalkoholischen Herzextrakten auf die Bildung von Hämatin.

Tabelle IV.

Antigen aus Rinderherz bereitet.

	5 % Hammelblutsuspension ccm	Phys. NaCl ccm	$^n/_{10}$-HCl ccm	A Skalenteile sofort	B Skalenteile nach $1^1/_2$ Std.	Differenz A — B	Differenz 1—2 A	Differenz 1—2 B
1.	0,5	0,5	1,0	47,0	28,0	19,0		
	0,4	0,6	1,0	54,5	43,0	11,5		
Ohne	0,3	0,7	1,0	65,0	60,6	4,4		
Antigen	0,2	0,8	1,0	76,5	67,5	9,0		
	0,1	0,9	1,0	87,0	84,6	2,6		
2.	0,5	0,0	1,0	27,5	26,0	1,5	19,5	2,0
0,5 ccm	0,4	0,1	1,0	39,0	40,0	— 1,0	15,5	3,0
20 %	0,3	0,2	1,0	53,3	53,0	0,3	11,7	7,6
Antigen-	0,2	0,3	1,0	70,5	68,3	2,2	6,0	— 0,8
lösung	0,1	0,4	1,0	82,0	81,6	0,4	5,0	3,0
2a.	0,5	0,0	1,0	31,6	32,0	— 0,4	15,4	— 4,0
0,5 ccm	0,4	0,1	1,0	50,2	49,0	1,2	4,3	— 6,0
10 %	0,3	0,2	1,0	57,0	55,0	2,0	8,0	5,6
Antigen-	0,2	0,3	1,0	76,0	76,6	— 0,6	0,5	— 9,1
lösung	0,1	0,4	1,0	83,0	81,6	1,4	4,0	3,0

Tabelle V.

Antigen aus Menschenherz bereitet.

	5 % Hammelblutsuspension ccm	Phys. NaCl ccm	$^n/_{10}$-HCl ccm	Skalenteile sofort	Skalenteile nach $1^1/_2$ Stdn.
	0,5	0,5	1,0	47,0	28,6
Ohne	0,4	0,6	1,0	55,0	44,0
Antigen	0,3	0,7	1,0	65,0	60,6
	0,2	0,8	1,0	76,5	69,9
	0,1	0,9	1,0	88,0	85,0
0,5 ccm	0,5	0	1,0	33,0	28,0
20 %	0,4	0,1	1,0	41,5	37,6
Antigen-	0,3	0,2	1,0	61,0	60,3
lösung	0,2	0,3	1,0	69,0	69,5
	0,1	0,4	1,0	83,3	83,3
0,5 ccm	0,5	0	1,0	33,0	28,6
10 %	0,4	0,1	1,0	51,0	48,4
Antigen-	0,3	0,2	1,0	65,0	64,0
lösung	0,2	0,3	1,0	71,0	70,5
	0,1	0,4	1,0	84,0	81,7

Die Tabellen IV und V illustrieren die Wirkung eines alkalischen Rinderherzextraktes und eines ebensolchen Menschenherzextraktes. Beide Extrakte erhöhen die Farbenintensität der Säurehämatinlösungen beträchtlich, Rinderherzextrakt etwas

mehr als Menschenherzextrakt. Je konzentrierter die Antigenlösung ist, desto stärker tritt die Erscheinung hervor; eine Proportionalität zwischen Antigenkonzentration und colorimetrisch bestimmbarem Säurehämatin besteht jedoch nicht, indem den verdünnten Lösungen ein relativ höherer Effekt zukommt. So wird z. B. die Farbenstärke einer Hämatinlösung aus 0,5 ccm Hammelblutsuspension durch eine 10% Antigenlösung um 15,4 Skalenteile gesteigert, durch eine 20% Antigenlösung nicht um 30,8, sondern nur um 19,5 Teilstriche.

Man wird sich erinnern, daß der bloße Säurezusatz (ohne Antigen) um so mehr Hämatin bildet, je länger die Säure auf die Erythrocyten einwirkt (Tabelle III), und es liegt daher nahe, die Wirkung der Antigene (alkoholischen Organextrakte) einfach als eine zeitlich beschleunigende aufzufassen. Würde diese Annahme zutreffen, so müßte sich nach Ablauf eines längeren Beobachtungsintervalles die Differenz zwischen den Proben mit und ohne Organextrakt schließlich ganz ausgleichen; das ist aber, wie die vorstehenden Tabellen lehren, nicht der Fall, indem sich die Unterschiede zwar nach $1^1/_2$ Stunden verringern, aber doch meist in dem Sinne weiterbestehen, daß der Hämatingehalt bei Anwesenheit von Organextrakt größer bleibt. Soweit sich die Verhältnisse beurteilen lassen, dürfte demnach der Mechanismus doch komplizierter sein.

Tabelle VI.

Wirkung des Äthylalkohols.

	5% Hammelblutsuspension ccm	phys. NaCl ccm	$^n/_{10}$-HCl ccm	Skalenteile sofort	Skalenteile nach $1^1/_2$ Std.
Ohne Äthylalkohol	0,5	0,5	1,0	46,0	29,5
	0,4	0,6	1,0	55,0	41,0
	0,3	0,7	1,0	65,0	61,0
	0,2	0,8	1,0	76,5	—
	0,1	0,9	1,0	85,0	83,0
0,5 ccm 20%iger Äthylalkohol	0,5	0,0	1,0	47,0	29,0
	0,4	0,1	1,0	56,0	39,5
	0,3	0,2	1,0	65,0	61,0
	0,2	0,3	1,0	—	—
	0,1	0,4	1,0	84,0	82,0
0,5 ccm 10%iger Äthylalkohol	0,5	0,0	1,0	44,6	29,5
	0,4	0,1	1,0	57,0	40,3
	0,3	0,2	1,0	66,0	—
	0,2	0,3	1,0	74,0	—
	0,1	0,4	1,0	86,0	82,0

Die Frage, ob der Äthylalkohol selbst in den benutzten Konzentrationen die Färbekraft des Hämatins erhöht, läßt sich auf Grund der Versuche in Tabelle VI verneinen; eher beobachtet man in einzelnen Fällen das Gegenteil. Die Organextrakte beeinflussen daher den Prozeß bzw. seinen colorimetrischen Effekt nicht durch das Extraktionsmittel, sondern durch die aus den Organen extrahierten Stoffe (Lipoide).

2. Wirkung von methylalkoholischen, Aceton-, Äther-, Benzin-, Chloroform-, Tetrachlorkohlenstoff-Extrakten.

Prüft man Extrakte aus Rinderherz (Tabelle VII) oder aus Menschenherz (Tabelle VIII), die mit anderen Extraktionsmitteln dargestellt wurden, so wird es klar, daß nur Methyl- und Äthylalkohol sowie Aceton, in sehr geringem Maße auch Äther jene Substanzen aus den Organen in Lösung überzuführen vermögen, die die Färbekraft des durch HCl erzeugten

Tabelle VII.

Wirkung von (mit verschiedenen Lösungsmitteln bereiteten) Extrakten aus normalem Rinderherz auf die Färbestärke des Hämatins.

Rinderherzextrakte.

Hammelblutsuspension ccm	$^n/_{10}$-HCl ccm	Zusatz von ccm	Zusatz von	Abgelesene Skalenteile sofort	Abgelesene Skalenteile nach 16 Stdn.
0,5	1,0	0,5	phys. NaCl	56,0	39,0
0,5	1,0	0,5	Methylalkohol	41,0	33,3
0,5	1,0	0,5	Aceton	36,5	33,0
0,5	1,0	0,5	Äthylalkohol	37,0	33,0
0,5	1,0	0,5	Äther	52,5	35,0
0,5	1,0	0,5	Chloroform	55,5	39,5
0,5	1,0	0,5	Benzin	56,0	40,0
0,5	1,0	0,5	Tetrachlorkohlenst.	56,0	47,6
Ein Teil Extrakt wurde mit 4 Teilen NaCl-(phys.)Lösung verdünnt.					
0,3	1,0	0,5	phys. NaCl	72,0	60,0
0,3	1,0	0,5	Methylalkohol	70,0	60,0
0,3	1,0	0,5	Aceton	62,0	56,0
0,3	1,0	0,5	Äthylalkohol	67,0	59,5
0,3	1,0	0,5	Äther	75,0	61,5
0,3	1,0	0,5	Chloroform	71,0	62,5
0,3	1,0	0,5	Benzin	74,5	65,0
0,3	1,0	0,5	Tetrachlorkohlenst.	—	—

Die Extrakte wurden aus Rinderherz bereitet (1 Teil Rinderherz + 10 Teile Extraktionsmittel).

Hämatins erhöhen; andere Extraktionsmittel kommen kaum in Betracht oder zeigen sogar wie Tetrachlorstoff eine schwache gegenteilige Wirkung. Die erste Stelle nehmen jedenfalls die äthylalkoholischen Extrakte ein; wie bereits angedeutet, scheint dabei das Rinderherz reicher an extrahierbaren Stoffen zu sein als das Menschenherz.

Tabelle VIII.

Menschenherzextrakte.

Hammelblut-suspension ccm	$^n/_{10}$-HCl ccm	Zusatz von ccm		Abgelesene Skalenteile sofort	nach 16 Stdn.
0,5	1,0	0,5	phys. NaCl	33,0	26,0
0,5	1,0	0,5	Methylalkohol	24,5	16,6
0,5	1,0	0,5	Äthylalkohol	14,0	14,0
6,5	1,0	0,5	Äther	30,5	25,0
0,5	1,0	0,5	Chloroform	36,0	30,0
0,5	1,0	0,5	Benzin	31,5	29,5
0,5	1,0	0,5	Tetrachlorkohlenst.	36,0	25,0

Bei allen wirksamen Extrakten kann man feststellen, daß die Steigerung des colorimetrischen Hämatintiters bei sofortiger Ablesung am eklatantesten in Erscheinung tritt und daß später die Differenz gegenüber dem reinen Säureeffekt sukzessive (wenn auch nicht völlig) zurücktritt. Ich habe daher

Tabelle IX.

Einfluß der Reihenfolge des Zusatzes auf die Hämatinbestimmung bei Rinderherzextrakten. S. I, 162 und 167,

Hammelblut-suspension ccm	Phys. NaCl ccm	$^n/_{10}$-HCl ccm	Zusatz von ccm		Die Reihenfolge des Zusatzes ist: erst Extrakt, dann HCl (sofort)	erst HCl, dann Extr. (sofort)	erst Extrakt, dann HCl (nach 16 Stunden)	erst HCl, dann Extr. (nach 16 Stunden)
0,5	0,5	1,0	—		40,0	40,0	15,5	15,5
0,5	0	1,0	0,5	Methylalk.-Extr.	15,0	35,0	7,0	10,0
0,5	0	1,0	0,5	Aceton "	11,3	19,5	6,0	8,0
0,5	0	1,0	0,5	Äthylalk. "	12,6	21,5	4,0	10,0
0,5	0,5	1,0	—		65,5	65,5	49,0	50,0
0,5	0	1,0	0,5	Methylalk. "	49,0	58,5	47,5	46,5
0,5	0	1,0	0,5	Aceton "	45,5	52,5	41,0	41,0
0,5	0	1,0	0,5	Äthylalk. "	40,0	53,0	43,0	44,0

sofort / nach 16 Stunden abgelesene Skalenteile.

auch versucht, ob nicht der Umstand eine Rolle spielt, daß man die Organextrakte erst nach dem HCl-Zusatz dem Reaktionsgemisch hinzufügt.

In der Tat ändern sich dann die Ablesungswerte in den ersten Phasen der Reaktion beträchtlich; sie sind viel niedriger, als wenn das Extrakt schon vorhanden ist, bevor die Säure mit den Erythrocyten in Kontakt kommt. In späteren Stadien des Reaktionsablaufes verwischen sich allerdings diese Unterschiede wieder, wenn auch nicht vollständig, so doch partiell.

3. Wirkung von normalem Meerschweinchenserum auf die Färbekraft von Säurehämatinlösungen.

Frisches Normalmeerschweinchenserum (Komplement) wirkt ganz ähnlich wie Antigen (Organextrakt). Konzentrationen von 1 : 10 bis 1 : 20 ergeben höhere Werte am Colorimeter, wobei wieder die Differenz gegenüber der Säurewirkung ohne Serum bei sofortiger Ablesung ausgesprochener ist als bei längerer Beobachtungsdauer.

Tabelle X.

Wirkung des Meerschweinchenserums.

	5% Hammelblutsuspension ccm	Phys. NaCl ccm	$^{n}/_{10}$-HCl ccm	Skalenteile sofort	Skalenteile nach 1 Stunde
Ohne Meerschweinchenserum	0,5	0,5	1,0	43,6	27,5
	0,4	0,6	1,0	51,0	40,0
	0,3	0,7	1,0	61,0	53,6
	0,2	0,8	1,0	74,3	66,0
	0,1	0,9	1,0	85,6	83,0
0,5 ccm 5% Meerschweinchenserum	0,5	0,0	1,0	35,0	27,0
	0,4	0,1	1,0	45,0	37,5
	0,3	0,2	1,0	56,5	54,3
	0,2	0,3	1,0	68,0	65,6
	0,1	0,4	1,0	81,6	80,0
0,5 ccm 10% Meerschweinchenserum	0,5	0,0	1,0	30,3	26,5
	0,4	0,1	1,0	40,6	37,5
	0,3	0,2	1,0	49,0	52,3
	0,2	0,3	1,0	67,3	66,5
	0,1	0,4	1,0	78,6	80,0

4. Wirkung verschiedener Normalhammelsera auf die Färbekraft von Säurehämatinlösungen aus Hammelerythrocyten.

Rote Blutkörperchen von acht verschiedenen Hammeln wurden gewaschen, gleiche Quanten in destilliertem Wasser

gelöst und mit 1 ccm $^n/_{10}$-HCl versetzt. Acht solche als Kontrollen dienende Röhrchen erhielten noch einen Zusatz von 0,5 ccm physiologischer NaCl-Lösung (erste Vertikalrubrik der Tabelle XI). Im eigentlichen Versuche kam zu jeder in destilliertem Wasser gelösten und mit HCl versetzten Erythrocytenprobe noch 0,5 ccm einer 10%igen Verdünnung des Serums von einem der acht Hammel, so daß also insgesamt 64 Kombinationen resultierten. Die obere Hälfte der Tabelle zeigt die sofort nach erfolgter Mischung der Reaktionskomponente am Autenriethschen Colorimeter abgelesenen Werte, die untere die Ablesungen nach Ablauf von $1^1/_2$ Stunden.

Tabelle XI.

Wirkung von Hammelserum bei der colorimetrischen Bestimmung des Hämoglobins (Hämatinbestimmung).

Nummer des Hammelblutes		Zusammensetzung der colorimetrisch untersuchten Flüssigkeit + 0,5 ccm 10%iges Hammelserum									Abgelesene Skalenteile
		+ 0,5 ccm phys. NaCl	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
I	0,5 ccm 2,4%ige Hammelblutkörperchenlösung in dest. Wasser + 1 ccm $^n/_{10}$-HCl	49,5	40,0	46,6	45,5	47,0	44,0	44,0	47,0	40,5	Die Bestimmung wurde sofort nach Mischung vorgenommen
II		43,5	42,0	37,5	43,0	35,0	37,3	34,0	40,0	40,5	
III		14,0	9,5	27,0	34,0	35,0	29,0	30,0	32,5	30,0	
IV		33,0	33,0	44,0	46,5	43,5	46,0	40,0	44,0	44,0	
V		54,0	45,6	51,5	53,5	54,5	51,0	52,5	51,5	52,5	
VI		45,5	38,0	38,0	43,0	38,0	40,0	37,5	37,5	34,5	
VII		45,0	44,0	47,5	46,5	47,0	47,0	43,5	45,5	45,5	
VIII		48,0	40,0	39,0	40,0	40,0	41,3	42,5	42,0	38,0	
I		30,0	25,0	29,0	26,5	33,0	28,5	23,0	29,0	31,5	Die Bestimmung wurde $1^1/_2$ Stunde nach Mischung vorgenommen
II		20,5	22,5	28,0	21,0	22,0	25,0	20,5	23,0	25,0	
III		—	—	9,0	13,9	6,0	5,0	10,0	7,5	15,5	
IV		1,0	20,0	30,0	24,0	32,0	29,5	21,0	34,0	30,0	
V		33,5	37,5	40,5	41,5	40,0	41,0	37,5	38,0	43,5	
VI		21,5	21,5	21,0	25,0	20,5	23,0	21,5	20,0	20,0	
VII		22,5	30,5	34,0	28,0	31,0	35,5	30,0	31,0	36,5	
VIII		20,5	26,5	25,5	23,0	20,5	23,5	24,0	30,5	30,0	

Man erkennt auf den ersten Blick:

a) daß verschiedene Hammelsera auf die Färbekraft einer aus der gleichen Menge identischer Erythrocyten hergestellten Säurehämatinlösung verschieden einwirkten (Horizontalrubriken);

b) daß die sub a) genannte Wirkung meist in einer Steigerung des colorimetrischen Titers bestand, oft genug jedoch auch in einer Erniedrigung, und daß die letzteren Fälle auf bestimmte Horizontalreihen konzentriert erscheinen (III, IV,

VII), also an bestimmte Erythrocytenarten gebunden waren, bei welchen fast alle Sera den colorimetrischen Titer erniedrigten;

c) daß — wie zum Teil schon aus dem sub b) geschilderten Verhalten hervorgeht — die Differenz der Färbekraft einer Lösung ohne Hammelserum gegenüber einer mit Hammelserum nicht nur von der individuellen Beschaffenheit des Serums, sondern, und zwar in weit höherem Grade, von der individuellen Beschaffenheit der Erythrocyten abhing.

Fassen wir die Ergebnisse aller bisherigen Versuche zusammen, so können wir sagen, daß die färbende Wirkung des Säurehämatins nicht ausschließlich durch den Hämoglobingehalt des Ausgangsmateriales bestimmt wird, sondern durch eine ganze Reihe anderer Faktoren vermehrt oder vermindert werden kann, und daß es daher auch nicht zulässig erscheint, den colorimetrischen Hämatintiter als Maß für den Hämoglobingehalt zu verwenden. Es gilt das nicht nur für Reaktionsgemische, wie man sie bei der Wassermannschen Reaktion benutzt, die außer den Hammelerythrocyten noch Sera anderer Provenienz (Meerschweinchenserum, Menschenserum) oder alkoholische Organextrakte enthalten, sondern auch für Vollblut, dessen Hb-Gehalt gleichfalls nicht als Säurehämatin colorimetrisch ermittelt werden kann, da das im Vollblut enthaltene Serum den Hämatintiter je nach seiner individuellen Beschaffenheit alteriert. Nach Tabelle XI ist es nicht zweifelhaft, daß die Blutproben von mehreren Hammeln trotz gleichen Hb-Gehaltes verschieden intensiv gefärbte Hämatinlösungen auch unter sonst gleichen Bedingungen liefern können, und man darf erwarten, daß ähnlich wechselvolle Verhältnisse auch bei anderen Vollblutarten zutage treten werden.

Ich habe schließlich noch versucht, der Natur der Substanzen näher zu kommen, die bei diesen Prozessen intervenieren.

Da das Säurehämatin in konzentrierteren Lösungen allmählich makroskopisch ausflockt, so wäre es denkbar, daß die studierten Vorgänge auf einer Fällung des Hämatins beruhen könnten und daß Sera, Organextrakte usw. diese Fällung als Schutzkolloide verzögern oder in anderen Fällen beschleunigen.

Ich prüfte daher den Effekt von Gelatinezusatz, der aber gleich Null war; allerdings kam der Gelatine auch kein fällungshemmender Einfluß im Sinne eines Schutzkolloides zu.

Tabelle XII.

Wirkung von Gelatinelösungen.

	5 % Hammelblutsuspension ccm	Phys. NaCl ccm	n/10-HCl ccm	Skalenteile sofort	Skalenteile nach 2 Std.	Skalenteile nach 12 Std.
Ohne Gelatine	0,3	0,7	1,0	46,3	40,6	30,5
	0,2	0,8	1,0	69,5	60,0	55,5
	0,1	0,9	1,0	83,0	83,0	80,6
0,5 ccm 1 % Gel.	0,3	0,2	1,0	46,0	38,5	28,0
	0,2	0,3	1,0	69,5	59,0	55,5
	0,1	0,4	1,0	83,5	83,0	80,5
0,5 ccm 0,1 % Gel.	0,3	0,2	1,0	48,5	41,5	30,0
	0,2	0,3	1,0	68,0	58,0	55,0
	0,1	0,4	1,0	84,5	82,0	81,0

Da man aus der Wirkung der methyl- und äthyl-alkoholischen Organextrakte mit großer Wahrscheinlichkeit folgern darf, daß Lipoide als Träger der beobachteten Wirkung anzusehen sind, zog ich auch Lecithin- und Cholesterinlösungen heran, die aber den Hämatintiter nicht in nennenswertem Grade erhöhten.

Lipoide könnten trotz dieser negativen Befunde noch immer die Ursache sein, sei es, daß es sich um Lipoide besonderer Art oder um spezielle Lipoidkombinationen handelt. Wichtig bleibt es, daß die Färbekraft der Hämatinlösungen so stark von der individuellen Beschaffenheit der zugesetzten Sera und Erythrocyten dependiert, die beide als lipoidhaltig bekannt sind und in dieser Beziehung wohl auch Schwankungen unterliegen.

Chemische Studien zur Physiologie und Pathologie. IV[1]).

Die Hämolyse. Das Komplement.

Von

E. Herzfeld und R. Klinger.

(Aus dem chem. Laboratorium der med. Klinik und aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 17. Dezember 1917.)

Bei der natürlichen Immunität sowie bei vielen Immunitätsreaktionen, die wir in vitro anstellen, spielen Stoffe eine große Rolle, die sich von den Antikörpern durch ihre mangelnde Spezifität unterscheiden. Sie werden vielmehr in vielen Normalseren angetroffen und wurden, da sie sich durch eine Reihe besonderer Eigenschaften auszeichnen, schon früh von den Antikörpern getrennt. Sie sollen im folgenden mit dem am häufigsten verwendeten Namen „Komplement" bezeichnet werden; ihre chemische Natur näher zu untersuchen, ist die Aufgabe dieser Mitteilung.

Zu diesem Zwecke wollen wir ein typisches Beispiel der Komplementwirkung, dessen Gesetzmäßigkeiten bereits sehr eingehend studiert wurden, chemisch analysieren: die Auflösung sensibilisierter Blutkörperchen durch komplementhaltiges Serum. Dies verlangt allerdings, daß wir uns zuerst über die Hämolyse selbst und die für sie wichtigsten chemischen Gesichtspunkte klar werden. Wir beginnen deshalb mit Untersuchungen über die unspezifische (ohne Komplement erfolgende) Hämolyse.

Die Blutkörperchen sind ein Objekt, das immer wieder für biologische Studien herangezogen wurde; in der Tat bietet die Auflösung dieser zellartigen Gebilde nicht nur für den Hämatologen, für den Kliniker und Pathologen Interesse. Auch die Zellphysiologie und physi-

---

[1]) Mitteilung III, „Studien zur Physiologie der Schilddrüse" wird in der Münch. med. Wochenschr. erscheinen.

kalische Chemie haben der Hämolyse viele Arbeiten gewidmet, nicht zum mindesten aus dem Grunde, weil die Erythrocyten so leicht vom übrigen Organismus abgetrennt und der Effekt einer physikalischen oder chemischen Einwirkung auf ihre Membran an dem Austritt des Farbstoffes bequem und deutlich verfolgt werden kann. Es kann nicht unsere Aufgabe sein, an dieser Stelle auf alle die zahlreichen Probleme, die sich hierbei ergeben haben, einzugehen. Wir werden uns vielmehr auf unser engeres Ziel beschränken müssen, dem chemischen Verständnis der Hämolyse im allgemeinen und der Komplementhämolyse im besonderen näherzukommen.

Die Hämolyse beruht auf dem Austritt des im Zellinnern gelöst vorhandenen Hämoglobins. Normalerweise hindert die Zellmembran infolge der ihr zukommenden Semipermeabilität das Aus- (und Ein-)treten größerer Molekularkomplexe. Sollen die kolloiden Hämoglobinteilchen durch dieselbe passieren können, so ist daher erforderlich, daß diese Semipermeabilität aufgehoben wird. Das Grundproblem der Hämolyse läßt sich somit so ausdrücken: Durch welche Mittel und unter welchen Bedingungen wird die Membran der Erythrocyten so verändert, daß sie für Eiweiß permeabel wird?

Über die Beschaffenheit dieser Membran wurden schon viele Hypothesen aufgestellt, wonach dieselbe bald nur aus Lipoiden, bald aus Eiweiß und Lipoiden in mosaikartiger Verteilung (Nathanson) oder aus Verbindungen von Eiweiß mit Lipoiden (Landsteiner u. a.) bestehend gedacht wurde. Nach allem, was über die Eigenschaften der Blutzellen bekannt ist, scheint es uns am wahrscheinlichsten, daß ihre Membran aus einem Gerüst von gefälltem Eiweiß besteht, dessen Maschen durch eingelagerte Lipoide abgedichtet werden. Das Eiweiß muß gefällt, d. h. in zusammenhängenden Komplexen (nicht kolloidal verteilt) zugegen sein; neben Lipoiden kommen anscheinend noch andere abdichtende Körper wie Cholestearin und ähnliche in Betracht. In welcher Anordnung und relativen Menge diese Bausteine im einzelnen sich vorfinden, entzieht sich vorläufig unserer Erkenntnis. — Für die Richtigkeit dieser Grundvorstellung dürften viele der im folgenden zu erörternden Tatsachen der Hämolyse sprechen.

Die Aufhebung der Semipermeabilität kann auf prinzipiell verschiedene Arten erfolgen, und dementsprechend möchten wir auch die hämolytischen Agenzien in mehrere Hauptgruppen teilen.

I. Mechanisch } wirksame Momente.
II. Chemisch }

Die ersteren bedingen den Austritt des Farbstoffes bloß dadurch, daß der natürliche Zusammenhang der Membran gestört wird, während die zweite Gruppe die Hämolytica im engeren Sinne umfaßt, die eine Auflösung der Membransubstanzen herbeiführen. Dies geschieht entweder durch eine einfache und direkte Lösung derselben oder dadurch, daß die Membranstoffe chemisch so verändert werden, daß sie nunmehr in dem Medium löslich sind und daher die Membran verlassen. Dementsprechend müssen wir unter den chemischen Hämolytica zwei Untergruppen unterscheiden:

A. direkt lösende Agenzien (Solventien);

B. auf Grund chemischer Aufspaltungen (Hydrolysen) der Membransubstanzen wirkende Stoffe (Hydrolytica).

In beiden Untergruppen kann die Wirkung ausschließlich oder vorwiegend auf die die Membran abdichtenden Lipoide oder auch auf die Eiweißkomponente der Membran gerichtet sein. Die meisten Hämolysen scheinen in erster Linie auf einer (direkten oder indirekten) Lösung der Lipoide zu beruhen; doch dürfte sich die Wirkung vieler hierher gehöriger Körper, namentlich der Gruppe B, gleichzeitig sowohl gegenüber Lipoiden wie gegen Eiweiß geltend machen, so daß hier eine strengere begriffliche Trennung auf Schwierigkeiten stoßen müßte.

Mechanische Hämolyse.

Von den mechanischen Momenten, die zur Hämolyse führen, möchten wir hier auf drei Formen näher eingehen, die von größerem Interesse sind. Daß Blutkörperchen durch grob mechanische Einwirkungen wie Schütteln mit Perlen, Auseinanderreißen verklebter (agglutinierter) Blutzellen u. ähnl. in ihrer Membran schwerer geschädigt werden können, ist nicht wunderlich und soll uns hier nicht weiter beschäftigen.

Das wichtigste Beispiel einer rein mechanischen Hämolyse ist diejenige durch Hypotonie (Wasserzusatz). Hier wird die Membran chemisch nicht weiter verändert, sondern bloß durch die rasch erfolgende Volumzunahme (durch den Wassereintritt) so stark gedehnt, daß sie nicht mehr dicht genug ist. Der

Hämoglobinaustritt erfolgt hierbei nicht durch ein plötzliches Platzen, durch einen Riß der Membran, sondern, wie die Dunkelfeldbetrachtung erkennen läßt, ganz ähnlich wie bei chemischen Hämolysen allseitig (nur daß hier der Grund in einem zu starken Auseinanderrücken der Membranteile, im anderen Falle dagegen in einem Herauslösen der Bestandteile liegt). Diese Membranveränderung ist nur eine momentane, leicht reversible, was man daran erkennen kann, daß solche mit Wasser gelöste Blutkörperchen hinterher ganz wie ungelöste faltig werden und schrumpfen, wenn man wieder Salz zusetzt und so eine Hypertonie des Milieus zustande kommt (Bordet). Dies ist nur denkbar, wenn die Membran als solche noch intakt ist und daher noch Konzentrationsunterschiede der Salze zwischen Innen und Außen auftreten können; während dieses Phänomen notwendigerweise fehlen muß, wo die Membran als solche zu bestehen aufgehört hat und nur noch ein grobmaschiges Gerüst übrig geblieben ist (chemische Hämolytica)[1].

Auf die interessanten Probleme, welche die wechselnde Resistenz der Erythrocyten gegen Hypotonie bietet, können wir hier nicht eingehen, hoffen aber, hierauf in einer späteren, der Zellpermeabilität gewidmeten Arbeit zurückzukommen.

Ähnlich wie bei Hypotonie durch zu schnelle Volumänderung erfolgt eine Hämolyse auch dann, wenn umgekehrt eine zu rasche Hypertonie des Milieus erreicht wird. Bei den im folgenden erwähnten Versuchen fiel uns auf, daß Blutkörperchen stets ziemlich stark gelöst werden, wenn man sie direkt in 20°/₀ oder noch höher konzentrierte Salz- oder Zuckerlösungen bringt. Wir haben diese Erscheinung zuerst auf ein Lipoidlösungsvermögen stark konzentrierter Salze bezogen, mußten uns aber überzeugen, daß diese Hämolyse ganz ausbleibt, wenn die Hypertonie der Umgebung weniger plötzlich gesteigert wird. Für Hämolyseversuche im stark hypertonischen Milieu empfiehlt es sich daher, die Blutzellaufschwemmungen zuerst in eine 2 bis 3°/₀ Salzlösung zu bringen und erst von

[1]) Bordet war auf Grund dieser Unterschiede zu der Annahme gekommen, daß die Hämolyse durch eine tiefgreifende Veränderung des Blutkörperchen-Stromas bedingt sei (Annales de l'Inst. Pasteur 1900, Zeitschr. f. Immunitätsf. 12), eine Vorstellung, die wohl an sich unhaltbar ist und auch nicht als Erklärung des oben beschriebenen Phänomens nötig ist.

hier nach kurzem Verweilen in die hoch konzentrierte Lösung. Dadurch gelingt es, die Hämolyse zu vermeiden, ein Beweis, daß sie nur durch die mechanische Schädigung der Membran bedingt war, welche die plötzlicheWasserentziehung (Schrumpfung) hervorgerufen hatte. Merkwürdig ist, daß diese Hämolyse ganz allmählich eintritt, wie es sonst bei mechanischen Hämolysen nicht beobachtet wird. — Bringt man Blutkörperchen, die einige Zeit in hoch konzentrierter Salzlösung geweilt haben, plötzlich in physiologische Lösung, so erfolgt gleichfalls Farbstoffaustritt. — In konzentrierte Ammonsulfatlösung können dagegen Blutzellen auch plötzlich aus isotonischem Milieu gebracht werden, ohne daß Hämolyse erfolgt, weil dieses Salz auch das Hämoglobin ausfällt und letzteres daher nicht mehr diffundieren kann.

Eine dritte Form mechanischer Auflösung der Erythrocyten, die gewiß in weiteren Kreisen bekannt, in der einschlägigen Literatur aber kaum beachtet ist[1]), liegt folgende Tatsache zugrunde: Wenn man (gewaschene oder ungewaschene) Blutzellen auf einem Objektträger, wie es für Ausstrichpräparate üblich ist, verteilt und lufttrocknen läßt, so lösen sich dieselben hinterher [wenn sie nicht „fixiert“ (koaguliert) werden] bei jeder Salzkonzentration auf, also auch dann, wenn man physiologische oder selbst stark hypertonische NaCl-Lösung darauf bringt. Die Eintrocknung hat jedenfalls eine scharfkantige Biegung und Kontinuitätstrennungen der Membran zur Folge, die Hämolyse ist auch hier eine rein mechanische.

Chemische Hämolyse.

A. Direkt lösende Agenzien. In erster Linie sind hier direkt fettlösende Stoffe zu nennen, welche die Lipoide der Membran einfach herauslösen. So Alkohol, Äther, Chloroform, ferner Stoffe wie Saponin und die ihm nahestehenden Körper (Digitoxin, Solanin u. ähnl.), ferner Galle und gallensaure Alkalien, welche ebenfalls die Fähigkeit besitzen, Lipoide in Lösung zu bringen. Nach unseren bisherigen Versuchen ist es für die Vertreter dieser Gruppe charakteristisch, daß ihre Wirkung wesentlich gesteigert wird, wenn die Salz-

---

[1]) Erwähnt ist dieselbe z. B. in einer vor kurzem in dieser Zeitschr. erschienenen Mitteilung von Wiechowski, 81.

konzentration des Milieus erhöht wird. Läßt man sie in 20 bis 25% NaCl-Lösung auf Blutkörperchen einwirken, so wird deren Auflösung meist schon in wenigen Sekunden oder Minuten erreicht, wenn sie bei gleicher Konzentration des Mittels, aber in physiol. Salzlösung erst nach längerer Zeit eintritt oder ganz unterbleibt. Dieser Einfluß des Salzzusatzes darf wohl darin gesucht werden, daß das Salz das freie Wasser des Milieus für sich in Beschlag nimmt, und indem es dasselbe den betreffenden Hämolytica entzieht, diese in die Membranen der Blutzellen drängt. So kommt eine ungleiche Verteilung, eine Anreicherung derselben in der Membran zustande, die eine entsprechend stärkere Wirkung zur Folge hat.

Wir bringen ein typisches Protokoll, das diese Verhältnisse illustriert. Nach dem vorhergehend Gesagten dürfen die Blutkörperchen für derartige Versuche nicht direkt in die konz. Salzlösung übergeführt werden, da sie sonst auch ohne weiteren Zusatz allmählich sich auflösen (mechanische Schädigung). Es muß deshalb das gewaschene Blut zunächst in 2 bis 5% Salzlösung gebracht und erst nach einiger Zeit von hier aus in die hochkonzentrierten Lösungen eingetropft werden.

Versuch 1.

Hämolyse von gewaschenem Kaninchenblut. Je 1,0 Salz- resp. Zuckerlösung + 1 Tropfen Blut. Äther und Chloroform wurden mit phys. NaCl-Lösung im Überschuß geschüttelt und von letzterer nach Abtrennen des ungelösten Äthers usw. je 0,4 verwendet. Die „Gallensäuren“ waren ein aus Galle hergestelltes Gemisch von gallensauren Alkalien.

Art des Zusatzes	Salzkonzentration						Zucker
	gesätt.	15%	10%	5%	2%	1%	6%
Alkohol 0,4	sofort	sofort	3/4′	2 1/2′	2′ beg. 4′ k	2′	—
Äther-NaCl 0,4	30″	12 Std. k	12 Std. wg	0	0	12 Std. Sp.	0
Chloroform-NaCl 0,4	3′	60′ wg 90′ fk	90′ Spur 12 St. stark	0	0	12 Std. Sp.	0
Saponin 3 Trpf.	3/4′	1 1/2′	2 1/4′	8 1/2′	11′	6 1/2′	2 1/4′
„ 1 „	4′	10′ fk 15′ k	120′ wg	0	0	0	—
Gallensäuren (neutr.) 0,3	sofort	sofort	1/2′	5′ wg 45′ fk	45′ wg 90′ fk	12 Std. k	12 St. 0
Glykochols. Na 0,1 Merck	sofort	1/2′	1′	5′	6′	18′	0

Die Zeiten geben die Dauer bis zur kompletten Hämolyse (k). fk = fast komplette H., wg = wenig gelöst, 0 = keine H. — Man bemerkt eine regelmäßige Abnahme der Schnelligkeit der Hämolyse mit jener der Salzkonzentration. Nur in 1% NaCl erfolgt die Lösung häufig etwas besser als in schwach hypertonischem Medium, was wohl mit der Schrumpfung der Membran in 2 bis 5% NaCl zusammenhängen dürfte. Zucker hemmt die Gallensäuren vollständig, während er Saponin meist fördert.

Stoffe wie Saponin und namentlich gallensaure Alkalien fördern, wie man leicht nachweisen kann, hydrolytische Aufspaltungen; ihre hämolytische Wirkung kann daher, wenn es sich um länger dauernde Versuche handelt, nicht rein als lösende gelten. Für unsere Versuchsanordnung, namentlich bei Anwendung höherer Salzkonzentrationen, wo alle Hydrolysen gehemmt sind, ist aber die direkte lipoidlösende Wirkung dieser Stoffe zweifellos die ausschlaggebende.

Auch das Tetanolysin scheint nach einigen diesbezüglichen Versuchen, da es in höherer Salzkonzentration schneller wirkt, den direkt lösenden Agentien zuzählbar zu sein.

Ob es direkt eiweißlösende Stoffe analog den soeben besprochenen lipoidlösenden Substanzen gibt, sei dahingestellt. Am ehesten könnte dies von den von Neuberg entdeckten hydrotropischen Salzen erwartet werden. Wir werden in unserer nächsten Mitteilung näher auf die Wirkung derselben gegenüber Eiweiß eingehen. Da diese Wirkungen, wie Neuberg gezeigt hat, nicht nur gegen Eiweißkörper, sondern auch gegen Lipoide gerichtet sind, wird es für die Hämolyse auch hier schwierig sein, zu entscheiden, ob sie mehr die eine oder die andere Komponente der Membran in Lösung bringen; meist dürfte wohl beides gleichzeitig geschehen. In vitro tritt in der Tat durch stärker konzentrierte Lösungen solcher Salze wie benzoësaures oder salizylsaures Na Hämolyse ein, z. B. 10%ige Lösungen bringen Hammelblut nach 6 bis 12 Stunden bei 18° zur Auflösung, höher konzentrierte schneller; 5%ige Lösungen wirken dagegen bereits nicht mehr. In vivo (bei dem natürlichen Untergang der Erythrocyten usw.) dürften deshalb solche Stoffe, da ähnliche Konzentrationen hierbei nicht in Betracht kommen, kaum eine größere Rolle spielen.

B. Hydrolytisch-aktive Hämolytica.

Da für die Hydrolysen Wasser resp. OH-Ionen erforderlich sind, werden alle hierher gehörigen Vorgänge gehemmt, sobald das freie Wasser durch irgendwelche Mittel entzogen wird. In dieser Weise wirkt u. a. die Erhöhung der Salzkonzentration, welche die Dissoziation der OH-Ionen zurückdrängt, indem das Wasser von den Salzmolekülen selbst in Anspruch genommen wird. Es ist deshalb für alle rein hydrolytischen Hämolysen bezeichnend, daß Erhöhung der Salzkonzentration

sie hemmt, eine Tatsache, die am deutlichsten bei der Säure- und Alkalihämolyse zutage tritt.

Versuch 2.

Anordnung und Bezeichnung wie oben.

	Salzkonzentration						Traubenzucker
	gesätt.	15 %	10 %	5 %	2 %	1 %	6 %
n-NaOH 1 Tropfen	40′	5′	1½′	1′	1′	½′	50′
n-HCl 1 Tropfen	überall braun agglutiniert. Keine Lösung				1½′	2′	5′
Essigsäure verd. 2 Tropfen	do.				6′ fk bleibt so	2′ wg 8′ fk 10′ k	4 Std. k

Man erkennt die steigende Hemmung beider Hydrohämolysen durch das Salz sowie eine deutliche Verzögerung in Zucker.

Hauptsächlich, wenn auch nicht ausschließlich hydrolytisch aktiv, dürften ferner Hämolytica wie Kobragift sein; auch die Komplementhämolyse ist sehr wahrscheinlich in erster Linie

Versuch 3.

Emulsionen von ölsaurem Na und einem älteren Lecithinpräparat, durch Einspritzen alkoholischer Lösungen in phys. NaCl-Lösung erhalten; davon je 0,2. Für die Versuche mit Kobragift wurde ein reines, an sich nicht hämolytisches Lecithinpräparat verwendet, das wir Herrn Dr. Escher verdanken. Ein Tropfen einer Emulsion desselben stand in der Salzlösung mit 2 Tropfen 0,1 ‰ Kobralösung. 15 Minuten hierauf wurde Blut zugesetzt.

	Salzkonzentration						Zucker
	gesätt.	15 %	10 %	5 %	2 %	1 %	6 %
Ölsaures Na . . .	20′ wg 60′ k	11′ wg 15′ stark 20′ k	10′ 0 12′ stark 14′ k	3′ stark 6′ fk 8′ k	5′ stark 5½′ k	5′ beg. 8′ k	—
Ölsaures Na . . .	60′ wg 90′ stark	5′ stark 20′ k	5′ stark 15′ k	10′ fk 20′ k	10′ fk 30′ k	10′ fk 30′ k	18′ stark 30′ k
Lecithin Bergel .	30′ wg 80′ k	30′ stark 60′ k	60′ 0 100′ fk	60′ 0 100′ fk	10′ stark 45′ k	60′ wg 130′ fk	60′ 0 130′ stark
Kobra + Lecithin Kaninchenblut	80′ Spur 300′ fk	80′ wg 120′ fk	80′ 0 120′ stark	80′ wg 120′ fk	20′ fk 25′ k	20′ fk 24′ k	7′ fk 10′ k
Kobra + Lecithin Hammelblut	100′ stark	4 Std. fk	4 Std. mg	4 Std. fk	22′ wg 30′ k	1′ stark 4′ k	12′ stark 22′ k
Kobra allein + Meerschw.-Blut	5′ fk 10′ k	120′ Sp.	0	0	0	3′ stark 4½′ k	40′ Agglut. 100′ k

ein hydrolytischer Vorgang, wie der allmähliche, durch höhere Temperatur beschleunigte Verlauf und die rasche Behinderung durch höhere Salzkonzentration beweist.

Eine Reihe anderer hämolytischer Stoffe kann dagegen in keine unserer beiden Hauptgruppen eingegliedert werden, da sie anscheinend ebensowohl direkt lösend wie spaltend wirken. Hierher möchten wir z. B. die Seifenhämolysen stellen, wie sie durch ölsaures Na, durch zersetztes Lecithin und andere Lipoidgemische zustande kommen. Wir geben im ersten Teil des folgenden Protokolls einige Beispiele über die Beeinflussung dieser Hämolysen durch den Salzgehalt.

Man bemerkt die Unregelmäßigkeiten der Seifenhämolyse, wo oft bei 2 % NaCl deutlich schnellere Lösung erfolgt als in 1 %. Z. T. mag dies damit zusammenhängen, daß auch die Seifenemulsionen selbst durch das Salz verändert (in höheren Konzentrationen ausgefällt) werden. Die aus Lecithin durch Kobragift abgespaltenen Seifen folgen dagegen im allgemeinen dem Konzentrationsgesetz, weil die Abspaltung ein typisch hydrolytischer Vorgang ist und daher bei höheren Konzentrationen gehemmt wird. Etwas störend wirkt aber der Umstand, daß Kobragift allein in schwachem Maße direkt lösend auf die Membranlipoide wirkt und hierbei durch hohe Salzkonzentration gefördert wird, was in der letzten Zeile deutlich hervortritt (links direkt lösende, rechts rein hydrolytische Wirkung).

Unter die hier angeführten Hämolytica gehören ferner noch reine Eiweißabbauprodukte, wie sie durch Aufspaltung von manchen gereinigten Eiweißkörpern erhalten werden. So konnten wir durch längere Autoklavierung von Nucleoprotein, von Serumeiweiß u. ähnl. (unter Zusatz von Bicarbonat oder Carbonat) Lösungen von Albumosen und Peptonen erzielen, die deutlich hämolytisch wirkten. Gemische verschiedenster Abbauprodukte sind hingegen in Autolysaten von Organen, von welchen namentlich solche von Lunge, Milz, Nebenniere usw. oft stark blutlösend wirken.

Alle hämolytisch aktiven Stoffe können natürlich durch solche Substanzen gehemmt werden, die sich direkt mit ihnen verbinden, oder sie adsorbieren und dadurch verhindern, daß sie noch auf die Blutkörperchen einwirken können. So wirken Lauge und Seifen in Zuckerlösung viel schlechter als in NaCl-Lösung, zweifellos weil sie mit dem Kohlenhydrat selbst reagieren. Bekannt ist der Antagonismus von Saponin und Lecithin oder Cholestearin; wenn das Saponin schon durch frei emulgiertes Lecithin abgesättigt wird, so kann es nicht mehr auf die Membranlipoide lösend wirken. Hierher gehört

auch die Hemmung, die fast alle Hämolytica durch Zusatz von Serum erfahren, dessen Kolloide (und chemisch aktive Substanzen wie Lecithin usw.) einen Teil des Hämolyticums an sich nehmen. Setzt man künstlich solche Stoffe wie z. B. Cholestearin zum Serum zu, so wird diese Hemmung des Serums verstärkt, während man dieselbe umgekehrt vermindern kann, wenn man dem Serum einen Stoff zusetzt, der diese hemmenden Substanzen bindet. Sehr gut gelingt dies z. B. mit Mastixemulsion, die an sich (ohne Serum) die Hämolyse etwas hemmt, dagegen die weit ausgesprochene Hemmung von Serum in geeigneter Dose fast ganz aufhebt.

Versuch 4.

Gewaschenes, nicht sensibilisiertes Rinder- oder Kaninchenblut in NaCl-Lösung, geprüft mit verschiedenen Hämolytica, ohne Serumzusatz sowie bei Zusatz von je 0,5 30fach verd. Meerschweinchen- oder Kaninchenserum sowie von ebensolchem Serum, dem Cholestearin resp. Mastix in folgender Weise zugesetzt werden: In je 10,0 ccm 30fach verd. Serum werden direkt die angegebenen Mengen (0,05 bis 0,4 ccm) einer alkoholischen Lösung von Cholestearin oder Mastix eingespritzt und dadurch im Serum fein kolloid verteilt[1]). Volumen 2,5 ccm, Stehen bei 37°.

Art des Hämolyticums	Blutart	Ohne Serum	30fach verd. Serum mit Cholestearin in Menge: 0	0,05	0,1	0,2	0,4
Lecithin Agfa 0,3	Rind	15′ k	45′ st 90′ k	65′wg 150′ fk	150′ wg	150′ Sp	0
Monomethylamin.	Rind	25′ k	32′ k	32′ k	32′ k	32′ k	32′ k
Cholin	Kaninch.	60′ k	80′ k	80′ k	80′ k	80′ k	80′ k
Ölseife 0,2	Rind	6′ k	90′wg 150′ k	90′wg 150′ fk	90′ Sp 150′ fk	120′ Sp 150′ st	150′Sp
Ölseife 0,15	Kaninch.	4′ k	60′wg 100′ k	100′ fk	100′ Sp 150′ wg	150′ Sp	0
Saponin 4 Tropfen	Rind	6′ k	7′ k	8′ k	10′ k	11′ k	12′ k
Saponin 4 Tropfen	Kaninch.	3′ k	4′ k	6′ fk 180′ k	6′ fk 180′ k	6′ fk 180′ k	180′Sp
Glykochols. Na 0,3	Kaninch.	17′ k	22′ k	25′ k	35′ k	35′ k	35′ k
Kobra + Lecithin	Kaninch.	25′	18′	35′	40′	200′ fk	200′ st

[1]) Die Zahlen über den Kolonnen der Tabellen bedeuten somit die Cholestearin- resp. Mastixmengen, die nicht pro Röhrchen, sondern auf 10,0 verd. Serum zugesetzt wurden. Da jeweils 0,5 ccm dieser Mischung verwendet wurde, ist die pro Röhrchen enthaltene Menge 20mal kleiner. Die alkoholischen Stammlösungen waren ca. $^1/_2$ %.

Art des Hämolyticums	Blutart	Ohne Serum	30fach verd. Serum + Mastix in Menge: 0	0,1	0,2	0,3	0,4
Lecithin Agfa 0,3	Rind	15′ k	30′ fk 40′ k	30′ fk 40′ k	30′ fk 40′ k	19′ k	16′ k
" " 0,5	Kaninch.	140′ k	90′ wg	90′ st	90′ fk	90′ k	50′ k
Monomethylamin 0,2	Rind	25′ k	36′ k	36′ k	30′ k	22′ k	14′ k
" 0,2	Kaninch.	$8^1/_2$′ k	12′ k	12′ k	12′ k	8′ k	6′ k
Cholin 0,5	Kaninch.	60′ k	90′ fk	90′ fk	90′ fk	80′ k	40′ k
Ölseife 6 Tropfen	Rind	8′ k	120′ Sp	45′ wg 55′ k	45′ st 55′ k	45′ st 55′ k	8′ fk 15′ k
Saponin 3 Tropfen	Kaninch.	5′ k	120′ k	65′ k	40′ k	25′ k	25′ k
Glykochols. Na 0,3	Kaninch.	17′ k	22′ k	22′ k	22′ k	15′ k	14′ k
Kobra + Lecithin	Kaninch.	25′ k	18′ k	16′ k	16′ k	16′ k	16′ k

Lecithin Agfa war eine aus alkoholischer Lösung in NaCl-Lösung hergestellte Emulsion. Ebenso waren von Monomethylamin, Cholin und oleinsaurem Na zuerst alkohol. Lösungen angefertigt worden, die meist 10fach in NaCl verdünnt wurden. Kobra + Lecithin war eine Mischung von an sich nicht hämolytischem Lecithin mit 1‰ Kobragiftlösung, die vor Verwendung 30′ bei 37° gestanden hatte.

Man erkennt in der ersten Tabelle die mit steigendem Cholestearinzusatz zunehmende Serumhemmung, in der zweiten Tabelle deren Kompensation durch Mastixzusatz. Die Amine (Cholin, Methylamin) werden durch Serum nur wenig beeinflußt, durch Mastix und Serum sogar verstärkt. Auch Cobragift + Lecithin wirkt mit Serum zusammen, wie bekannt, besser (Aufspaltung im Serum enthaltener, an sich inaktiver Substanzen).

Die Hämagglutination.

Die Agglutination der roten Blutkörperchen steht zwar in mannigfachen Beziehungen zur Hämolyse, kann aber auch ganz unabhängig von derselben zustande kommen. Die für ihre Ausbildung unserer Ansicht nach wesentlichen Momente haben wir in einer speziell der Bakterienagglutination gewidmeten Studie näher auseinandergesetzt[1]); das dort Ausgeführte gilt für alle Suspensionen, und daher auch für die Erythrocyten. Wir möchten aber auf diese Fällungserscheinung hier noch kurz eingehen, um unsere früheren Ausführungen bei dieser Gelegen-

[1]) Diese Zeitschr. 83, Heft 2.

heit zu ergänzen und durch weitere Tatsachen zu stützen, gleichzeitig auch einige für die Hämolyse verwertbare Vorstellungen zu gewinnen.

Auch bei den roten Blutkörperchen möchten wir annehmen, daß die „Benetzbarkeit“ oder „Wasserlöslichkeit“ der Oberflächen und die dadurch gegebenen Wasserbindungssphären die Hauptursache sind, warum diese Zellen normalerweise nicht miteinander verkleben, selbst wenn sie so enge aneinander kommen, wie dies bei scharfem Abzentrifugieren der Fall ist. Es bleibt um jedes Körperchen noch eine trennende Wasserschicht, die man sich wie eine Befeuchtung der Oberfläche vorstellen kann und die eine direkte Berührung der Membranen verhindert. Der Ausdruck „Benetzbarkeit“ bei Zellen, deren Membran zum großen Teil aus Lipoiden besteht, bedarf vielleicht einer näheren Motivierung. An Grenzflächen zwischen flüssigen Stoffen ist dreierlei möglich: Entweder der feste Stoff ist in der Flüssigkeit (ganz oder nahezu) unlöslich; dann kann er darin nicht als Suspension stabil sein, weil die Teilchen aneinander kleben und ausfallen. Oder der Stoff ist in der Flüssigkeit auflösbar (z. B. Oxalatpulver in Wasser), dann ist ebenfalls keine stabile Suspension möglich, weil die wasserlöslichen Teilchen die Oberfläche so lange verlassen, bis die Lösung gesättigt ist; dann aber verhält sich die Oberfläche des nicht mehr löslichen Suspensoids wie diejenige eines Stoffes, der von Anfang an unlöslich war. Die dritte Möglichkeit ist diejenige, die an allen echten („hydrophilen“) Suspensionen in Erscheinung tritt; hier wird eine gewisse Menge von Wasser an die Oberfläche der Teilchen gebunden, ohne daß die letztere in Lösung geht. An einem Eiweißteilchen befinden sich z. B. Peptide, die zwar wasserlöslich sind, aber doch die Oberfläche (für gewöhnlich) nicht verlassen (erst durch Kochen der Lösung hiervon entfernt werden können). Solche Stoffe sind die eigentlichen „Löslichkeitsvermittler“ der Kolloide, sie bedingen die Hydrophilie derselben. Wird ihre Menge an den Oberflächen vermehrt, so gehen sie meist nicht einfach frei in die Lösung über, sondern führen bei den noch feiner dispers aufspaltbaren Kolloiden (wie Eiweiß, Lipoide und ähnl.) zu einer weiteren Auflockerung der Oberfläche, wodurch häufig eine Aufspaltung kolloider Teilchen in höher disperse Partikelchen erfolgt; wäh-

rend umgekehrt eine Verminderung der wasserlöslichen Abbauprodukte eine Verklebung der Teilchen, eine Agglutination und Ausflockung zur Folge hat.

Derartige Löslichkeitsvermittler sind auch für Lipoide notwendig und kommen tatsächlich vor, wie die Möglichkeit stabiler Lipoidemulsionen zeigt. Blutkörperchen dürften wasserlösliche Eiweiß- und Lipoidspaltstücke jenes Wasserbindungsvermögen verleihen, das sie zu „hydrophilen“ Partikelchen macht. Hier wie bei Bakterien und anderen Suspensionen tritt die gegenseitige Verklebung ein, sobald das so gebundene Wasser von stärker wasseranziehenden Stoffen weggenommen wird. Mit konzentrierter NaCl-Lösungen gelingt dies zwar noch nicht; auch Ammonsulfat, das die meisten Eiweißkörper und auch Bakterien und ähnliches ausflockt, wirkt auf Blutkörperchensuspensionen nicht deutlich, was dafür spricht, daß diese Oberflächen tatsächlich nicht vorwiegend aus Eiweiß (wie bei den meisten Bakterien) bestehen können. Dagegen kann man leicht durch Säuren die Hydrophilie überwinden. Setzt man zu Blutkörperchen, die in starker (z. B. 15 bis 20 $^0/_0$) konzentrierter NaCl-Lösung suspendiert sind, etwas Salpetersäure, so tritt rasch eine sehr ausgesprochene Agglutination ein (die hämolytische [hydrolytische] Wirkung der Säure wird durch das Salz aufgehoben, s. o.). Bakterien werden unter gleichen Bedingungen dagegen nur langsam und unvollkommen ausgeflockt.

Die Agglutination durch gewisse Metallsalze beruht auf der Umwandlung der löslichkeitsvermittelnden (Eiweiß- oder Lipoid-) Abbaustoffe in weniger wasserbindende (weniger hydrophile) Salze oder Salzverbindungen und ist ebenso bedingt, wie die Ausflockung von Bakterien oder mancher anderer Eiweißlösungen durch diese Stoffe. Daß hierbei die Art des Salzes ebenso wie die chemische Natur der betreffenden Abbauprodukte, die ja von einer Spezies zur andern Unterschiede aufweist, ein von Fall zu Fall verschiedenes Verhalten zur Folge haben muß, bedarf wohl keiner besonderen Ausführung.

Auch die Agglutination in NaCl-Lösung gewaschener Blutkörperchen in Zuckerlösungen, in Mannit, Alanin, stärker konzentriertem hippursauren Na usw. möchten wir hierherstellen; die Abbauprodukte, die die Erythrocyten nach längerem Ver-

weilen in NaCl stabilisieren, sind sehr wahrscheinlich NaCl-Salzverbindungen. Eine plötzliche Wegnahme des Salzes durch ein salzfreies Medium bedingt eine Herabsetzung ihres Wasserbindungsvermögens (ähnlich wie manche Serumglobuline schon durch Verdünnen mit Zuckerlösung oder Wasser ausfallen [s. b. Hydrolabilität des Komplementes]). Wird deshalb dem Zucker etwas Salz zugesetzt (schon $^1/_2$ ‰ genügt nach Gürber), so bleibt diese Agglutination aus, während sie umgekehrt durch schwache Säuren (CO_2, $^n/_{300}$-HCl) ähnlich wie Globulinfällungen sehr deutlich verstärkt wird.

Wird Blut von vornherein in Zuckerlösung gebracht und gewaschen, so agglutiniert es nach vorübergehendem Aufenthalt in NaCl nicht mehr in Zucker (Bang), was darauf hindeutet, daß für die Stabilisierung der Blutzellen je nach dem Milieu verschiedene Arten der Löslichkeitsvermittlung in Betracht kommen.

Die häufigsten und typischsten Beispiele von Blutagglutination liefern uns jene Substanzen, die das Wasserbindungsvermögen der Erythrocyten dadurch herabsetzen, daß sie sich an der Oberfläche derselben niederschlagen. Viele Kolloide sind hierzu befähigt, und fast alle tierischen und pflanzlichen Hämagglutinine gehören hierher. Die Ausflockung von Blutzellen durch Immun- oder Normal-„Antikörper" ist eine Globulinfällung, die die Wasserbindung derselben stört und eine Annäherung und gegenseitige Adsorption der einzelnen Zellen ermöglicht (ebenso wie sie auch die Adsorption [= Fällung] weiterer, an sich labiler Teilchen, wie z. B. des „Mittelstückes" des Komplementes möglich macht s. u.). Auch die anderen tierischen und die pflanzlichen Agglutinine (Cobragift, Ricin usw.) sind zweifellos Kolloide, die an die Blutzellen ausflocken, und ebenso wie kolloide Säuren (Kieselsäure) eine Agglutination herbeiführen.

Die häufig vor der Hämolyse zu beobachtende Agglutination möchten wir, soweit sie nicht schon durch die Natur des Hämolytikums erklärt ist, auf eine Verklebung der bereits gelösten Zellen mit den noch ungelösten beziehen. — Die Autoagglutination (Geldrollenbildung usw.) darf wohl auf geringfügige Fällungen von Gobulinen auf die Blutzellen zurückgeführt werden; in dieser Hinsicht ist von Bedeutung, daß die „Bindung" der hierbei beteiligten Stoffe, wie Landsteiner[1]) gezeigt hat, in der Kälte besser vor sich geht, also unter Bedingungen, die für Globulinfällungen auch sonst günstig sind.

[1]) Landsteiner, Münch. med. Wochenschr. 1903.

Die Komplementhämolyse.

Die Wirkung des „Komplementes“ (K) äußert sich in einer beschleunigten Auflösung von sensibilisierten (mit Antikörpern beladenen) Zellen (Blutzellen, Bakterien usw.). Die sehr umfangreichen Untersuchungen, die auf diesem Gebiete vorliegen, lassen an der K-Hämolyse zwei wesentlich verschiedene Vorgänge unterscheiden: Der erste ist eine zweifellose Fällungserscheinung und ist auf gewisse Globuline des Serums zu beziehen, für die sich der Ausdruck „Mittelstück“ (M) eingebürgert hat; durch dasselbe werden die schon mit einem ersten Globulinniederschlag (dem Antikörper oder Amboceptor) versehenen „Antigen“-Teilchen (= Blutkörperchenmembranen) noch weiter empfindlich gemacht, „persensibilisiert“. Der zweite Teil des Prozesses, die eigentliche Lösung, ist dagegen durch die in der „Albuminfraktion“ des Serums enthaltenen Abbauprodukte bedingt [das sog. Endstück (E)], die gewisse Substanzen aus der Membran der aufzulösenden Zellen herauslösen; dadurch heben sie die Abdichtung und mit ihr die Semipermeabilität der Membran auf. Beide Vorgänge, die M- und E-Funktion, stehen in enger Beziehung zueinander, insofern als erst die vorhergehende M-Bindung die Möglichkeit schafft, daß die E-Abbauprodukte auf das zugesetzte Antigen wirken können. Denn nur wenn die Oberflächen der zu lösenden Zellen durch den M-Globulinniederschlag so verändert sind, daß die wirksamen Stoffe des E durch Adsorption an diese Oberflächen konzentriert werden, können sie ihr lipoid- und eiweißlösendes Vermögen in der Membran entfalten. Hierin liegt der Grund, warum das „K“ nur auf sensibilisierte (resp. persensibilisierte) Antigene zu wirken vermag; nämlich darin, daß nur diese so beschaffene Oberflächen aufweisen, die die aktiven Stoffe aus dem Serum gewissermaßen an sich ziehen.

Wir haben schon oben gesehen, daß Serum normalerweise viele von jenen hämolytischen Substanzen hemmt, die (wie Saponin, Cholin, Seifen usw.) direkt die Membran der (nicht sensibilisierten) Erythrocyten angreifen; entweder, weil dieselben an die Oberflächen der im Serum reichlich vorhandenen Kolloide adsorbiert oder an bestimmte, darin gelöste Stoffe (wie Cholestearin usw.) gebunden werden, wodurch ihre Affinität zu den

Membransubstanzen herabgesetzt wird. Auch die als E wirksamen Stoffe sind im Serum nicht frei, sondern in ähnlicher Weise gebunden, und sie machen sich daher, auch wenn sich das Serum bei unserer gewöhnlichen Versuchsanordnung als sehr komplementreich erweist, in vivo so lange gar nicht geltend, als sie nicht lokal an der Oberfläche einzelner Zellen angereichert werden. Dies findet nur an „sensibilisierten" (und persensibilisierten) Oberflächen statt, während bei den unveränderten (nicht sensibilisierten) Zellen kein Grund für eine derartige Anreicherung vorliegt. Wir können daher das Endstück geradezu definieren als Stoffe, die die Eigenschaft besitzen, aus serumähnlichen (kolloidhaltigen) Lösungen durch sensibilisierte Antigene angezogen zu werden und dann lokal hydrolytisch zu wirken.

Diese Feststellung dürfte für die Beurteilung der bisherigen Versuche, künstliches „Komplement" herzustellen, von Bedeutung sein. Es darf von vornherein erwartet werden, daß ein Ersatz des natürlichen Endstückes durch einen einzigen Stoff nie möglich sein wird, ja, daß es überhaupt kein K ohne Serum oder doch nicht ohne eine dem Serum ähnliche Kolloidlösung geben kann. Wenn ein Stoff in wäßriger Lösung Blutkörperchen löst, so wird er dies in der Regel gegenüber sensibilisierten wie nicht sensibilisierten Erythrocyten vermögen[1]); die ersteren werden ihn nur wenig besser aus dem Lösungsmittel an sich ziehen als normale. Vielleicht werden sich zuweilen geringe Unterschiede im zeitlichen Verlauf der Lösung oder in der eben noch lösenden Grenzkonzentration zwischen sensibilisiertem und gewöhnlichem Blut erzielen lassen[2]); der geradezu prinzipielle Unterschied, wie ihn das eigentliche K zwischen diesen beiden Blutsorten macht, wird aber auf diese Weise wohl nicht erreichbar sein. Denn wenn der hämolytische Stoff frei ist und eine Affinität zu den Blutkörperchen hat, so muß er allmählich in die Membran gehen und

---

[1]) Wird mit viel Serum sensibilisiert und nicht gewaschen, so bedingt dies häufig eine Hemmung der Hämolyse, also eine scheinbar größere Resistenz der sensibilisierten Zellen.

[2]) Man vgl. z. B. hierhergehörige Versuche über Seifenhämolyse bei v. Liebermann u. v. Fenyvessy, Zeitschr. f. Immunitätsf. **10**, Knaffl-Lenz, diese Zeitschr. **80**.

daselbst wirken. Ganz anders dagegen unter Bedingungen, wie sie im natürlichen K-haltigen Serum gegeben sind. Die hierin wirksamen Abbauprodukte haben jedenfalls gar keine besondere Affinität zu den Blutzellen, d. h. nicht mehr als zu anderen, im Plasma vorkommenden Lipoiden oder Eiweißkolloiden; denn sonst müßten sie ja auch in vivo allmählich an den Blutkörperchen angereichert werden. Ihre Affinität ist vielmehr zu den reichlich im Plasma vorhandenen Lipoiden, Cholestearin usw. ebenso groß wie zu denselben (oder sehr ähnlichen Stoffen) der Erythrocytenmembranen. Es stellt sich daher eine gleichmäßige Verteilung dieser Stoffe zwischen Plasma und Zellipoiden her, die erst gestört wird, wenn stark absorbierende Oberflächen auftreten. Dies kann z. B. in vivo bei Menschen mit paroxismaler Hämoglobinurie eintreten; hier genügt eine vorübergehende Abkühlung des Blutes, um gewisse Globuline ausfallen zu machen. Diese schlagen sich auf die roten Blutkörperchen nieder, sensibilisieren sie, d. h. geben ihnen gut adsorbierende Oberflächen, an denen sich weitere Globuline (M) und schließlich auch Abbauprodukte anheften. Wir sehen an diesem Beispiel, bei dem gar nichts Blutfremdes beteiligt ist, daß die bloße Verteilung der Kolloide und sekundär diejenige der E-Abbauprodukte eine Komplementhämolyse bedingen kann, indem sie die im Serum enthaltenen lösenden Stoffe auf die Blutzellmembranen konzentriert.

Die Bemühung, reine, d. h. eiweißfreie K-Lösungen herzustellen, scheint daher von vornherein vergeblich. Was wir als künstliches K werden erreichen können, ist bloß, chemisch einfache lipolytische Stoffe zu finden, die folgender Forderung entsprechen: Zu kolloidhaltigen (serumähnlichen) Lösungen zugesetzt, müssen sie von denselben zunächst adsorbiert werden und dadurch ihre eventuell vorhandenen, direkt hämolytischen Eigenschaften verlieren; bei Gegenwart persensibilisierter Antigene müssen sie aus diesen Adsorptionen (oder Bindungen) austreten, an den neuen Oberflächen sich anreichern und ihre lösenden Fähigkeiten entfalten. Es scheinen uns daher diejenigen Versuche von v. Liebermann und Fenyvessy, Noguchi u. a., in denen bestimmte Stoffe wie Seifen zu an sich unwirksamen Serum- oder Globulinlösungen zugesetzt

wurden, in bezug auf die Methode am ehesten aussichtsreich. Wir müssen freilich auf Grund eigener Versuche mit den meisten übrigen Nachprüfern zugeben, daß die bisherigen Resultate noch nicht befriedigen. Vielleicht wird es aber bei Verwendung von persensibilisierten Blutzellen und etwas größerer Variation der hämolytisch aktiven Stoffe gelingen, die natürliche E-Wirkung besser nachzuahmen. Wenn die Versuche vielfach fehlschlugen, so mag dies nicht nur daran gelegen sein, daß die bisher gewählten Stoffe nicht genügend mit den im nativen Serum vorhandenen übereinstimmten, sondern zum guten Teil daran, daß bei der Wirkung solcher künstlicher Gemische der kolloide Zustand der Komponenten und die Art der Bindung derselben (Adsorption oder lockere chem. Bindung) von ausschlaggebender Bedeutung ist, ein Faktor, dessen willkürliche Beeinflussung noch recht wenig in der Hand des Experimentators liegt und außerdem häufig ganz vernachlässigt wurde[1]).

Wir möchten in dieser Arbeit auf dieses Problem nicht näher eingehen und nur darauf hinweisen, daß, wenn schon die Wirkung des Endstückes allein an ein kompliziertes Substanzgemisch gebunden ist, dies um so mehr von dem Gesamtkomplement gelten muß, das sich aus zwei ganz verschiedenen Komponenten (M und E) zusammensetzt und daher selbstverständlich nicht durch einen einzigen Körper nachgeahmt werden kann. Man sollte sich zunächst damit begnügen, das E ersetzen zu wollen, d. h. Stoffe zu finden, die Blutkörperchen lösen, die in an sich unwirksamen Seren oder andern Eiweißlösungen persensibilisiert wurden, während sie normales Blut vollständig unversehrt lassen. Davon zu trennen wären Versuche, ein künstliches M zu finden, eine Aufgabe, die bei der ungemein labilen Beschaffenheit des natürlichen M allerdings schwierig erscheint (vielleicht erweist sich dasselbe aber [ähnlich wie der Amboceptor durch kolloide Kieselsäure] durch gewisse Kolloide ersetzbar). Solange wir kein künstliches M besitzen,

---

[1]) Von den erwähnten Autoren (v. Liebermann u. v. Fenyvessy) wurde die Rolle des Dispersitätsgrades der Serumkolloide schon insofern erkannt, als sie auf den Einfluß wechselnden Alkalizusatzes aufmerksam wurden und zeigen konnten, daß bestimmte Laugenmengen die K.-artige Wirkung ihrer Gemische wesentlich verbessern. Über die Wirkungsart solcher Laugenzusätze s. u. bei Brandscher Modifikation.

dürften Globuline von Tierseren, die reich an M sind und dabei wenig E enthalten (wie z. B. vom Hammel) mit Vorteil zum Studium der E-Wirkung Verwendung finden. (Nach den von Guggenheimer[1]), Michaelis und Skwirsky[2]) u. a. angegebenen Methoden (Zuckerlösung oder schwachsaure Reaktion des Milieus). (Versuche, mit Eieralbumin in Zucker zu persensibilisieren, haben uns nur negative Resultate ergeben.)

Wir wollen nunmehr die beiden Komponenten des K in ihren wesentlichen Eigenschaften näher betrachten und chemisch analysieren. Wir beginnen mit dem Mittelstück. Damit ein Serum M-Wirkung ausüben kann, ist, wie aus vielen Arbeiten und aus eigenen Versuchen hervorgeht, ein bestimmter Grad der Fällbarkeit eines Teiles seiner Globuline[3]) erforderlich. Wir können das M geradezu als „Globuline von einer bestimmten Labilität“ definieren, nämlich derjenigen, bei der sie in schon eingetretene Fällungen (Antigen-Antikörperfällungen) einbezogen werden und dieselben verstärken. Es gibt eine Anzahl von Eingriffen, die diese Labilität beeinflussen, und wir können dementsprechend eine Stufenreihe aufstellen, die die verschiedenen Grade der Globulinstabilität anzeigt:

1. Frisches Serum: Labilste Stufe; die M-Globuline fallen durch bloße Verdünnung mit dest. Wasser aus und können dadurch „inaktiviert“ werden.

2. Auf Eis gelagertes Serum. Die Hydrolabilität ist geschwunden (weil sich durch allmähliche Autolyse [die auch bei 0° nachweisbar, wenn auch viel langsamer erfolgt], die Abbau-

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsf. 8.

[2]) Zeitschr. f. Immunitätsf. 5.

[3]) Wir müssen hier betonen, daß unter „Globulinen“ keine chemisch besonders zusammengesetzten Eiweißkörper, sondern bloß Eiweißteilchen von einer relativ größeren Labilität verstanden werden dürfen, die durch die Beschaffenheit ihrer Oberflächen bedingt ist. Die mangelhafte Entwicklung der Eiweißchemie hat es mit sich gebracht, daß der Grad dieser Labilität nur ungenügend berücksichtigt wurde; weshalb physik.-chemisch so verschiedene Teilchen wie z. B. die „Mittelstückglobuline“ einerseits, die aus erhitztem Serum durch Ammonsulfat ausfällbaren „Globuline“ oder die mit Lipoidextrakt reagierenden „Lues-Globuline“ andererseits unter denselben Namen und daher vielfach auch unter den gleichen Begriff gebracht wurden. Wir werden in unserer nächsten Mitteilung hierauf noch zurückkommen und verweisen vorläufig auf unsere letzte „Studie zur Chemie der Eiweißkörper“, 83, H. 2.

produkte an den Oberflächen der Kolloide vermehrt haben; die Teilchen sind dadurch so weit stabilisiert, daß bloße Auslaugung der Salze noch nicht zur Fällung führt). Die Komplementfunktion ist aber noch erhalten, d. h. die Globuline fallen noch aus, wenn adsorbierende Stoffe, wie sensibilisiertes Blut, ebensolche oder native Bakterien, Agar usw., zugesetzt werden. Ähnlich verhält sich kurz auf 51° erhitztes Serum.

3. Kurz (5 bis 15 Min.) auf 54° erhitztes Serum. Seine Globuline fallen bereits nicht mehr durch die unter 2. angeführten Eingriffe aus; wohl aber können sie unter gewissen Bedingungen noch M-Funktion aufweisen. Werden sie nämlich zu Serum zugesetzt, das durch Einwirkung von Kobragift, Bakterien, Agar usw. in seinen Globulinen so verändert ist, daß dieselben an sich nicht mehr M-Funktion besitzen, so sind beide Globuline zusammen infolge gegenseitiger Adsorption noch imstande, an sensibilisierte Antigene auszufallen. So erklärt sich u. E. die Wirkung der sog. 3. Komponente des Komplementes, die ja nach dem vorliegenden Tatsachenmaterial nichts anderes als relativ stabilere, aber noch nicht zu stabile Globuline sind.

4. Diese letzte Stufe ist das „inaktive" Komplement, d. h. jedes ursprünglich K-haltige Serum, in dem infolge Erhitzung [56° 10 Min.][1]) oder stärkere Autolyse usw. die Globuline so weit stabilisiert sind, daß sie bei den für die Komplementfunktion in Betracht kommenden Reaktionen nicht mehr ausfallen.

Alle diese Stufen gehen natürlich ohne Grenzen ineinander über, d. h. es gibt keinen prinzipiellen, sondern bloß graduelle Unterschiede zwischen frischen und mehr oder weniger lang gelagerten, zwischen mehr oder weniger lange auf 50°, 51°, 52° usw. erhitzten Seren usw. Der Stabilisierungsprozeß verläuft in der Zeit, bald schneller, bald langsamer, je nach den äußeren Bedingungen, die ihn verzögern (z. B. niedere Temperatur beim Lagern, Säurezusatz beim Erhitzen) oder beschleunigen.

Daß isolierte Globuline zuweilen etwas weniger hitzeempfindlich sind als ebensolche im Serum, hat seinen Grund darin, daß bei Fehlen der Abbauprodukte der Albumine und Herabsetzung der alkalischen

[1]) Durch Abstumpfung der natürlichen Alkalinität des Serums durch Säurezusatz kann die Inaktivierungszeit hinausgezogen werden.

Reaktion durch die Fällung die hydrolytischen Veränderungen durch die Hitze verlangsamt sind.

Wir wollen nun, um unsere Auffassung vom Wesen des M zu vertiefen und anschaulicher zu machen, zwei hierhergehörige Erscheinungen näher untersuchen, die bereits von vielen Forschern eingehend studiert, bisher aber nicht aufgeklärt wurden. Wir meinen die sog. Hydrolabilität des Komplementes und die sog. Brandsche Modifikation des M. Das erste Phänomen wurde namentlich von Sachs genau analysiert. Es besteht darin, daß frisches Serum, mit Wasser ca. 10fach verdünnt, nach kurzem Stehen, namentlich bei 37° seine Komplementwirkung verliert, inaktiviert wird. Sachs führte diesen Vorgang auf eine gewisse, „optimale" Globulinfällung zurück; denn es ließ sich nachweisen, daß gleichzeitig im Serum eine Globulintrübung eintritt und daß das Phänomen ausbleibt, wenn diese Trübung zu wenig oder zu stark ausgebildet ist. Warum dieselbe aber zur Zerstörung des K führt, wurde bisher nicht beantwortet.

Die zweite Reaktion, das Auftreten der Brandschen Modifikation (B. M.) besteht in folgendem: Wenn man durch Verdünnung mit schwacher Säure die M-Globuline aus frischem Serum ausflockt, auf der Zentrifuge isoliert und in einer dem ursprünglichen Serumvolumen entsprechenden Menge NaCl-Lösung auflöst, so vermögen dieselben, mit einer entsprechenden Menge E gemischt, das K zu restituieren, d. h. die Mischung verhält sich wie eine ungespaltene, gleich große K-Menge. Schon nach kurzem Stehen gehen aber die isolierten M-Globuline (wenigstens gewisser Tiere, wie Meerschweinchen) eine Umwandlung ein, derzufolge sie mit E zusammen nicht mehr lösend wirken. Dagegen ist ihre M-Natur noch insofern erhalten, als sie sensibilisierte Blutkörperchen persensibilisieren (für E empfindlich machen), wenn sie zunächst allein (ohne E) damit in Berührung kommen. Auch für diesen Vorgang bestand zur Zeit keine befriedigende Erklärung.

In beiden Fällen handelt es sich um die Erscheinung, daß eine vorhergehende Globulinfällung zur Inaktivierung des K führt. Wie ist dieselbe chemisch zu erklären? Die Beantwortung dieser Frage dürfte nicht schwer fallen, wenn wir uns über die Folgen klar sind, die eine derartige, vorübergehende Fällung

für die beteiligten Kolloide haben kann. Nach der Fällung kann das betreffende Globulin entweder in den frühern phys.-chem. Zustand (spez. Dispersitätsgrad) zurückkehren oder nicht. Das erstere wird dann erfolgen, wenn durch die Fällung und während ihres Bestehens nichts Wesentliches an den Globulinteilchen vorgefallen ist. Geschieht die Globulinfällung daher auf eine Weise, die die einzelnen Teilchen in ihrer Löslichkeit nicht tiefer beeinflußt, so können sie sich wieder wie früher verteilen und werden wieder dieselben Eigenschaften (speziell Stabilität) aufweisen, sobald der momentane Grund ihrer Unlöslichkeit (= gröberen kolloiden Verteilung) aufgehoben wird.

Eine solche, meist glatt reversible Fällung ist z. B. die Ausflockung der Globuline durch schwache Ansäuerung ($^n/_{300}$-HCl, Durchleiten von CO_2) in verdünntem Serum, Dialyse (allmähliche Salzentziehung) von unverdünntem Serum und ähnlichem. Dieselben beruhen, wie wir schon in früheren Mitteilungen gezeigt haben, auf einer Herabsetzung der Löslichkeit der Globuline, die aber hinterher, sobald der normale Salz- und Alkaligehalt restitutiert wird, wieder ausgeglichen wird. Denn während der Fällung haben sich die Oberflächen der aneinander gelagerten Teilchen nicht weiter verändert. (Wir sehen von gewissen Fällen einer teilweisen Schädigung des Komplementes unter dieser Bedingung hier ab, da wir unten darauf zu sprechen kommen.) Anders dagegen, wenn während der Fällung eine Veränderung an den Oberflächen der Teilchen — denn nur hier kann eine solche einsetzen — vor sich geht, wodurch dieselben in ihrer Löslichkeit modifiziert werden. Fast immer wird es sich hierbei um Adsorption von Abbauprodukten aus der Lösung und dadurch begünstigte hydrolytische Aufspaltungen an den Oberflächen der Teilchen handeln. Dadurch werden diese Oberflächen aufgelockert, in ihrer Löslichkeit erhöht, und solche Globulinpartikelchen verhalten sich nun wesentlich anders, wenn sie (durch Aufsalzen des mit Wasser gestandenen Serums oder durch Vermischen des M mit E) wieder feiner kolloidal verteilt werden.

Bei der Verdünnung mit Wasser werden die durch Salzentziehung labilisierten Globuline ausgeflockt. An den Oberflächen der gröber dispers gewordenen Teilchen werden aus dem Serum gewisse Abbauprodukte adsorbiert und dadurch

angereichert. Dies bedingt, daß jetzt während des Stehens an den Oberflächen der gröber dispersen Partikelchen intensivere Aufspaltungen einsetzen können. Die Fällung ist daher, wie Sachs mit Recht betont hat, die Voraussetzung der Hydrolabilität; sie ist es deswegen, weil sie jene Abbauvorgänge nach sich zieht, auf die es bei dem ganzen Vorgange ankommt. Wird sie verhindert (z. B. durch schwachen Laugenzusatz zum Wasser, siehe unten), so verhält sich das Serum nicht anders, als wäre es mit NaCl-Lösung verdünnt worden. In diesem letzteren Falle sind die vorhandenen Abbauprodukte ganz wie im unverdünnten Serum auf die verschiedenen kolloiden Oberflächen zwar ungleichmäßig, aber doch entsprechend einem gewissen Gleichgewicht verteilt. Die autolytischen Aufspaltungen eines Serums erfolgen daher nach einer Gesetzmäßigkeit, die durch bloßes Verdünnen mit NaCl-Lösung, mit schwacher Lauge und ähnlichem nicht wesentlich verschoben wird. Ist dagegen eine Fällung eingetreten, so werden die Abbauprodukte an die neuen Oberflächen dank deren gutem Adsorptionsvermögen angereichert. Sind geeignete Abbauprodukte in nötiger Menge zugegen und auch sonst die Bedingungen für Hydrolysen günstig, so führt diese Adsorption zu einer Auflockerung der Globulinoberflächen und zu einer Steigerung der proteolytischen Wirkung des Wassers[1]. Die Bedingungen, die zu der Fällung führen, schaffen somit gleichzeitig, wenn auch indirekt, die Möglichkeit zu einer vermehrten Auflösung (feiner kolloiden Verteilung) derselben Globuline.

Wesentlich für diese Auffassung vom Zustandekommen der Hydrolabilität ist die Tatsache, daß die K-Zerstörung durch Wasser bei 37° viel schneller erfolgt, bei 0° fast ganz ausbleibt: ein Beweis, daß hydrolytische Aufspaltungen dabei im Spiele sind. Wird Serum sehr stark (20 bis 40fach) mit Wasser verdünnt, so werden dadurch auch die Abbauprodukte

---

[1]) Auch die Wirkung der proteolytischen „Fermente" = Abbauprodukte geht, wie wir gezeigt haben, auf dasselbe Prinzip zurück, nämlich auf Erhöhung der Löslichkeit der Oberflächen infolge Adsorption der Abbaustoffe, wodurch eine feinere kolloide Verteilung des Eiweißes möglich wird; dies hat eine Vergrößerung der Angriffsflächen der vorhandenen OH-Ionen zur Folge, was sich wieder in gesteigerter Spaltung von Peptidbindungen (d. i. „Eiweißabbau") äußert.

in ihrer Konzentration stark herabgesetzt, die Möglichkeit zu ihrer Anreicherung und Wirkung an den Oberflächen ist daher geringer und der K-Schwund findet langsamer statt (Sachs und Teruuchi). — Dieses Verhalten ist darum von besonderem Interesse, weil es uns auch die K-Wirkung selbst, speziell die Notwendigkeit eines Mittelstückes, verständlicher macht. Denn auch bei der E-Funktion kommt es, wie wir gesehen haben, darauf an, daß durch eine vorhandene Globulinfällung die Abbauprodukte an die Oberfläche der Blutkörperchen angereichert werden, auch hier bleibt die Hydrolyse = Hämolyse aus, wenn die Fällung nicht zustande kommt.

Die B.-M. erklärt sich folgendermaßen: Die in NaCl wieder aufgelösten Globuline sind zunächst noch relativ grob dispers (die Lösung ist immer stark opalescent). Erst wenn sie mit dem E zusammenkommen, findet ihre feiner disperse Verteilung statt; denn das E enthält reichlich Abbauprodukte, die nun an die Oberfläche der (daran armen) Teilchen gehen und deren feinere kolloide Verteilung ermöglichen. Frisch gelöste Globuline + E verteilen sich fast genau so wie im ursprünglichen Serum. Lassen wir dagegen die M-Lösung einige Zeit stehen, so findet (auch hier bei höherer Temperatur beschleunigt) an den Oberflächen der Teilchen durch die bei der Fällung mitgerissenen Abbauprodukte eine Auflockerung und Aufspaltung statt, die zur Folge hat, daß solche Teilchen sich viel feiner als frisch gelöste verteilen, wenn sie nunmehr mit E zusammenkommen. Hierbei wird einerseits das Globulin in der angedeuteten Weise „modifiziert", d. h. zu sehr stabilisiert, zugleich werden aber auch mehr E-Abbauprodukte verbraucht, d. h. von den aufgelockerten Flächen adsorbiert. Daher die Mischung weder zu M- noch zu E-Funktion mehr fähig ist. Solange die Globuline, auch wenn sie durch die geschilderten Abbauvorgänge bereits umgewandelt sind, noch nicht mit E vermischt sind, bleiben sie genügend grob dispers, um leicht von sensibilisierten Erythrocyten adsorbiert zu werden; daher haben auch die nach Brand modifizierten Globuline noch ihre Fähigkeit zu persensibilisieren.

Für die Bedeutung der Abbauprodukte beim Zustandekommen dieser Veränderung sprechen noch folgende Tatsachen: Werden die mitgerissenen Abbauprodukte entfernt, z. B. durch

Auswaschen des Globulinniederschlages mit Wasser, so erfolgt die Umwandlung nicht [Thomson und Leschly[1])]; ebenso bleibt sie aus oder stellt sich nur verzögert ein, wenn die Globuline anstatt im einfachen, im vielfachen Volumen NaCl-Lösung aufgelöst werden oder wenn die Fällung derselben von Anfang an aus stark verdünntem Serum vorgenommen wird: Also stets unter Bedingungen, bei welchen weniger Abbauprodukte an den Oberflächen der Teilchen vorhanden sein müssen.

Daß die Einwirkung der modifizierten Globuline auf das E gegenseitig ist und auch E dabei verbraucht wird, geht aus den von Marks[2]) mitgeteilten Versuchen hervor, die zeigten, daß die Lösung wieder eintritt, wenn die Globuline in kleinerer Menge als der angewandten E-Dose entsprechen würde, verwendet werden ($^1/_5$ bis $^1/_{20}$). Wir haben diese Versuche mit verschiedenen Variationen wiederholt und müssen allerdings gestehen, daß dies nicht so regelmäßig gelingt, wie man nach dem von Marks angeführten Protokoll erwarten könnte. Doch haben auch wir das Phänomen bald mehr, bald weniger deutlich in einer Anzahl von Versuchen beobachtet, d. h. es gelingt durch kleinere M-Dosen eine etwas, zuweilen merklich bessere Lösung zu erzielen als mit größeren. Bezeichnend in dieser Hinsicht ist aber der Umstand, daß diese Erscheinung namentlich dann auftritt, wenn das E schon an sich (wie es ja nicht selten vorkommt) etwas hämolytisch wirkt. In solchen Fällen wird diese E-Wirkung durch größere Mengen des autolysierten M vollständig gehemmt, während sie bei kleineren noch durchkommt und sogar verstärkt sein kann. — Wir kommen daher zu dem Schluß, daß die Brandsche Modifikation des Mittelstückes eine Autolyse ist, bedingt durch die mit den Globulinen mitgerissenen Abbauprodukte, und daß die K-Wirkung des Gemisches von (modifiziertem) M + E dadurch aufgehoben wird, daß einerseits die Globuline zu sehr stabilisiert, andererseits von ihnen zu viel E-Abbauprodukte verbraucht werden.

Eine weitere Stütze für die im vorhergehenden entwickelten

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsf. 11.
[2]) Zeitschr. f. Immunitätsf. 8.

Vorstellungen möchten wir in folgenden Versuchen erblicken, in welchen durch Zusatz von schwacher Säure oder Alkalien die Löslichkeit der Globuline beeinflußt wurde. Schon Sachs und Altmann haben eine Reihe ähnlicher Protokolle mitgeteilt[1]), die sich auf die K-Funktion des mit Wasser gestandenen Serums beziehen. Wir bringen einige ergänzende Versuche, namentlich in bezug auf die B.-Mod., die unseres Wissens noch nicht näher in dieser Richtung studiert wurde. Versuche, die uns auch deshalb mitteilenswert scheinen, weil sie über die spezielle, uns beschäftigende Frage hinaus einige allgemeinere Gesetzmäßigkeiten nachweisen lassen, die für den Eiweiß- und Kolloidchemiker von Interesse sein dürften.

Versuch 5.

Einfluß von Laugen oder Säurezusatz auf die Zerstörung des K in Wasser. Meerschweinchenserum je 0,25 pro Röhrchen, dazu 2,25 NaCl-Lösung (a) oder Wasser (b) bzw. Wasser mit Laugen (NaOH) oder Säurezusatz (HCl). Die Mischungen stehen 1 Stunde bei 37°, worauf aufgesalzen und neutralisiert wird (durch Zugabe von je 2,0 entsprechend saurer oder alkalischer, bei den Kontrollen neutraler Salzlösung)[2]). Prüfung wie üblich mit 6fach sensibilisiertem Hammelblut, Volum jeweils 2,5 ccm. Die gewählten Alkali- bzw. Säurekonzentrationen sind in der Tabelle angegeben.

Menge der Serumlösung	Serum verdünnt gestanden mit:									
	Phys. NaCl	Wasser	Lauge				Säure			
			$^n/_{1000}$	$^n/_{500}$	$^n/_{150}$	$^n/_{50}$	$^n/_{1000}$	$^n/_{500}$	$^n/_{150}$	$^n/_{50}$
1,5	20′ k	20′ Spur 30′ fk	30′ fk	30′ st 40′ k	20′ k	0	20′ fk 30′ k	20′ k	20′ k	0
1,0	20′ k	45′ st 60′ k	65′ fk	65′ st	20′ k	0	20′ wg 30′ fk	20′ st 30′ k	20′ k	0
0,5	20′ k	0	0	0	20′ st 30′ k	0	65 wg	65′ st	20′ st 30′ k	0

Das mit Wasser und $^n/_{1000}$-Lauge verdünnte Serum waren deutlich bzw. schwach trüb. $^n/_{500}$-Lauge usw. klar. $^n/_{1000}$-Säure ziemlich stark, $^n/_{500}$ sehr stark träb, $^n/_{150}$ bereits klar, ebenso $^n/_{50}$.

k bedeutet komplette Hämolyse, fk = fast komplette, st = starke, wg = wenig H., 0 = keine H. Die Zahlen sind Minuten seit Beginn des Versuches.

---

[1]) Diese Zeitsehr. 78,

[2]) Da beim Stehen von Eiweiß mit Alkali oder Säure stets ein Teil desselben verbraucht wird, so kann eine folgende Neutralisierung mit genau entsprechenden Säure- resp. Alkalimengen nie genau zu dem ursprünglichen Alkaligehalt eines Serums zurückführen.

Versuch 6.

Einfluß von Alkali oder Säure auf die Ausbildung der B.-M.

7 ccm Meerschweinchenserum werden mit 63 ccm $^n/_{300}$-HCl versetzt und stehen 1 Stunde bei 0°. Es wird zentrifugiert, der Globulinbodensatz nach gutem Abfließen der Albumine in 7,0 NaCl-Lösung aufgelöst und in 2 Reihen von Röhrchen verteilt.

Reihe 1 erhält je 0,6 Globulinlösung
+ a) 0,06 Wasser
b) 0,03 $^n/_{50}$-Säure oder Lauge + 0,03 Wasser
c) 0,06 $^n/_{50}$-Säure oder Lauge
d) 0,03 $^n/_5$-Säure oder Lauge + 0,03 Wasser.

Reihe 2 erhält je 0,4 Globulinlösung
+ a) 4,0 NaCl-Lösung
b) 3,8 „ „ + 0,2 $^n/_{50}$-Säure oder Lauge
c) 3,6 „ „ + 0,4 $^n/_{50}$- „ „ „
d) 3,8 „ „ + 0,1 $^n/_5$- „ „ „

Dadurch sind Globulinlösungen hergestellt, die (bloß nach den Zusätzen beurteilt) als neutral, $^n/_{1000}$, $^n/_{500}$, $^n/_{100}$ (in Reihe 2 $^n/_{200}$) zu bezeichnen wären. Die Röhrchen stehen bei 30°, nach den angegebenen Zeiten werden jeweils Proben entnommen und zusammen mit E (Dose 0,75 oder 0,5 der wie üblich neutralisierten und aufgesalzenen Albuminfraktion) auf komplette Wirkung geprüft.

Reihe 1. E-Menge 0,75.

Alter der Glob.-Lösg.	Menge der Glob.-Lösg.	Reaktion der stehenden Globulinlösung:						
			alkalisch			sauer		
		neutral	$^n/_{1000}$	$^n/_{500}$	$^n/_{100}$	$^n/_{1000}$	$^n/_{500}$	$^n/_{100}$
10′	0,1	35′ wenig 50′ k	0	0	15′ k	15′ k	15′ k	0
	0,05	35′ wenig 50′ k	120′ Spur	0	15′ k	15′ k	15′ k	120′ stark
	0,025	50′ fk	120′ wenig	120′ wenig	30′ k	30′ k	30′ k	100′ Spur 120′ fk
40′	0,1	0	0	0	20′ Spur 30′ k	20′ k	20′ k	120′ stark
	0,05	0	0	0	20′ wg 30′ k	20′ k	20′ fk	70′ 0 120′ fk
	0,025	50′ Spur 120′ stark	70′ Spur 120′ wenig	120′ Spur	20′ stark 30′ k	20′ fk	20′ fk	70′ Spur 120′ stark
110′	0,1	0	—	—	0	20′ k	20′ k	—
	0,05	90′ Spur	—	—	0	20′ fk	20′ k	—
	0,025	90′ Spur	—	—	0	20′ stark 40′ k	20′ fk	—

E allein (0,75) nach 120′ Spur. 2 Stunden gestandenes E (als Kontrolle zur 3. Serie nach 110′): nach 90′ stark. Zeichen wie bei Versuch 1 bedeutet: Versuch konnte wegen E-Mangel nicht mehr angesetzt werden.

Reihe 2 (verdünnte Globuline). E-Menge 0,5.

Alter der Glob.-Lösg	Menge der Glob.-Lösg.	Reaktion der stehenden Globulinlösung:						
			alkalisch			sauer		
		neutral	$^n/_{1000}$	$^n/_{500}$	$^n/_{200}$	$^n/_{1000}$	$^n/_{500}$	$^n/_{200}$
15'	0,4	20'k	20'k	20'k	90'Spur 120'fk	0	0	0
	0,2	20'k	20'fk	20'fk 40'k	40' wg 90'k	120' wg	120'wg	120' wg
	0,1	20' stark 40'k	20'Spur 40'k	20'0 40'fk	80'stark 120'fk	120' wg	120'wg	120' wg
60'	0,4	30'fk	30'k	30'k	80'0 180'k	—	—	—
	0,2	30'stark 50'k	30'k	30'k	55'stark 120'k	80'0 120' wg	80'0 120'wg	80'0 120' wg
	0,1	30' st 50'k	30'fk	30' stark 50'k	55' wg 120'k	—	—	—
120'	0,4	40'0 120'fk	20' wg 40'k	20' stark 40'k	—	—	—	—
	0,2	40' wg 120'fk	20' wg 40'k	20' mg 40'k	—	—	—	—
	0,1	40'0 120'fk	40' stark 60'k	20'Spur 40' fk	—	—	—	—

Kontrollen und Bezeichnung identisch mit Reihe 1.

Versuch 7.

Einfluß von Alkali oder Säure auf die Zerstörung des K durch Erhitzen. Je 0,5 Meerschweinchenserum wird verdünnt ãa mit phys. NaCl-Lösung sowie mit $^n/_{500}$-, $^n/_{250}$- und $^n/_{50}$-Lauge bzw. Säure in phys. NaCl-Lösung. Serie 1 ist 5 Minuten, Serie 2 10 Minuten auf 52° erhitzt.

Menge des Serums	Dauer der Erhitzung	Erhitzt unter Zusatz von							Serum unerhitzt
			Lauge			Säure			
		NaCl	$^n/_{500}$	$^n/_{250}$	$^n/_{50}$	$^n/_{500}$	$^n/_{250}$	$^n/_{50}$	
0,2	5'52°	30'stark 40'k	30' wg 40'k	70'Spur	0	30'k	20'k	20'k	20'k
0,1		40'0 70'fk	40'Spur 70'fk	0	0	40'stark 70'k	30'stark 40'k	30'k	20'k
0,05		0	0	0	0	70'Spur	70'fk	40'st 70'k	30'k
0,2	10'52°	70' wg	0	0	0	70' wg	30'fk	20'k	—
0,1		0	0	0	0	0	30'Spur 70'fk	30'k	—
0,05		0	0	0	0	0	0	70'k	—

Im Vergleich zur unerhitzten Kontrolle (letzte Kolonne) ist das angesäuerte Serum zwar deutlich geschwächt, aber doch wesentlich weniger als das bloß mit NaCl oder das mit Alkali erhitzte.

Diese Versuche zeigen zunächst folgendes: Die Zerstörung des K durch Stehen in Wasser wird durch Zusatz von $^{n}/_{1000}$- bis $^{n}/_{500}$-Lauge etwas beschleunigt, durch $^{n}/_{150}$-Lauge dagegen fast vollkommen aufgehoben. $^{n}/_{1000}$-Säure wirkt etwas, $^{n}/_{500}$ schon deutlich der Wasserverdünnung entgegen; bei $^{n}/_{150}$-Säure ist die Konservierung ebenso ausgesprochen wie bei gleicher Laugenkonzentration. $^{n}/_{50}$-Lauge oder Säure zerstören das K schneller und gründlicher als Wasser.

Die Umwandlung der Globuline in die B.-M. wird durch $^{n}/_{1000}$- und $^{n}/_{500}$-Lauge stark beschleunigt, bei $^{n}/_{100}$-Lauge dagegen zuerst verzögert. Nach 1 bis 2 Stunden hört dieser Schutz der Lauge allerdings auf und weicht seinem Gegenteil. In schwacher Säure findet die Umwandlung der Globuline so gut wie gar nicht statt, erst größere Säuremengen wirken schädlich.

Wir sehen somit, daß die Lauge, obwohl sie natürlich stets in der gleichen Weise, nämlich hydrolytisch aufspaltend und daher lösend wirken muß, dreimal einen anderen Effekt hervorbringt, je nach der Menge, in welcher sie zum Eiweiß zugesetzt wird. Ganz schwache Mengen wirken bereits lösend auf die Oberflächen der Teilchen, wie man schon mit freiem Auge aus der Aufhellung der opalescenten Lösung erkennen kann. Die Teilchen werden aber noch nicht so hoch dispers, daß sie der Einwirkung der Abbauprodukte entzogen wären; die ebenfalls die kolloide Verteilung steigernde Wirkung der letzteren addiert sich zu jener der Lauge, Hydrolabilität und Brandsche Mod. treten stärker hervor. Bei einer größeren Menge Lauge wird dagegen die kolloide Aufteilung der Globuline sofort so weit getrieben, daß sie denselben Dispersitätsgrad erreichen wie im nativen, ungespaltenen Serum; sie sind daher den Abbauprodukten entzogen und werden nicht wesentlich modifiziert. Erst bei längerer Dauer der Einwirkung macht sich die spaltende Wirkung der Lauge bemerkbar; denn wenn Lauge ohne adsorbierte Abbauprodukte auch schwächer wirkt als bei Gegenwart von solchen, so ist der autolytische Zerfall der Teilchenoberflächen durch die OH-Ionen doch gesteigert. Noch stärker in demselben Sinne wirkt ein Überschuß von Lauge ($^{n}/_{50}$), der daher die Globuline rasch so fein dispers macht, daß sie zur M-Funktion nicht mehr fähig sind.

Schwache Säure wirkt dagegen ganz anders, nämlich in der Weise, daß sie die Abbauvorgänge hemmt. Obwohl die Ausflockung der Globuline eine noch viel gröbere ist, finden jetzt keine bzw. nur geringfügige Spaltungen an den Oberflächen statt. Es hängt dies, wie wir schon wiederholt betont haben, damit zusammen, daß der schwache Säurezusatz die natürliche, schwach alkalische Reaktion des Serums abstumpft. Die Reaktion ist somit gar nicht sauer, die geringen Säuremengen sind vielmehr von den Aminosäuren der Eiweißoberflächen in Beschlag genommen worden; es sind daher fast keine H- bzw. OH-Ionen zugegen und Hydrolysen sehr erschwert. Die Teilchen werden deshalb auch bei längerem Stehen nicht wesentlich affiziert und gehen nach Restitution von Salz und Alkali in ihren ursprünglichen Verteilungsgrad zurück. Erst größere Säuremengen wirken gleich wie Lauge hydrolytisch (infolge und entsprechend ihrer Dissoziation) und spalten daher die Globuline auf.

Bei derartigen Versuchen zeigt sich stets, daß nicht die Konzentration der Lauge bzw. Säure an sich das Wesentliche für den Wirkungsgrad ist, sondern das Mengenverhältnis von Lauge zum Eiweiß. Wir haben deshalb das dritte Protokoll (Nr. 6, Versuch 2) angeführt, das erkennen läßt, daß die bei 9facher Serum-Verdünnung noch konservierend wirkenden Laugen bzw. Säurekonzentrationen bei 40facher Verdünnung, wo trotz gleicher Konzentration viel mehr Lauge auf dieselbe Menge Eiweiß kommt, nun bereits zu stark ist, d. h. die M-Funktion aufhebt. Es sind dies weitere Beispiele dafür, daß Eiweiß Lauge und namentlich Säure zunächst bindet und dadurch dem Milieu entzieht.

Auch die von Sachs und Altmann mitgeteilten Versuche, daß schwache Lauge der Kälte (Stehen des mit Wasser verdünnten Serums bei 0^{0}, wobei der Komplementschwund nur langsam eintritt) entgegenwirkt und ähnliche hierher gehörende Beobachtungen dürften nach dem vorhergehenden verständlich sein. Auch brauchen wir hier wohl nicht zu wiederholen, daß eine Fällung ganz bestimmten Grades nicht deshalb komplementzerstörend wirken kann, weil sie an sich die Globuline schädigt; sondern nur der Umstand ist entscheidend, daß bei den betreffenden, als optimal befundenen Bedin-

gungen die Abbauvorgänge an den Teilchen am intensivsten sind und daher zu einer tiefer greifenden Veränderung derselben führen[1]).

Anders verhält es sich dagegen dort, wo eine erste Fällung die Grundlage für eine folgende liefert, wie dies bei den später zu besprechenden K-bindenden Präcipitationen der Fall ist. Hier ist wirklich der Dispersitätsgrad der ausfallenden Teilchen in erster Linie von Bedeutung, da er darüber entscheidet, ob das zweite Globulin (das M) in die Ausflockung mit einbezogen wird oder nicht. Es darf aber nicht vergessen werden, daß der Dispersitätsgrad ja stets eine Funktion der Oberflächenlöslichkeit, d. h. der Menge und Natur der an den Teilchen befindlichen Löslichkeitsvermittler ist, so daß alle von ihm abhängigen Erscheinungen indirekt doch wieder mit den adsorbierten Abbauprodukten zusammenhängen.

Auf der soeben besprochenen Herabsetzung der hydrolytischen Aufspaltungen durch Verminderung des Alkaligehaltes (Säurezusatz) beruht auch die bekannte Tatsache, daß das K durch Hitze bei schwach saurer Reaktion weniger geschädigt wird als bei „neutraler“, d. h. ohne Säure, während Alkalizugabe im Gegenteil die Zerstörung des K, d. i. die Stabilisierung der Globuline (abgesehen von ihrer hydrolytischen Wirkung auf die E-Abbauprodukte) sehr beschleunigt. Wir geben, da auch diese Tatsache eine Illustration zu unseren Ausführungen ist, ein diesbezügliches Protokoll wieder (Versuch 7).

Aus unserer Diskussion des Wesens des Komplementmittelstückes dürfte hervorgehen, daß es sich hierbei um eine Fällung von Globulinen handelt und daß diese Funktion des Serums daher entsprechend fällbare Globuline zur Voraussetzung hat. Nicht die chemische Zusammensetzung, sondern nur der physikalisch-chemische Zustand ist hierbei wesentlich. Weder das M noch die dritte „Komponente“ sind besondere chemisch differente Stoffe des Serums, sondern bloß Eiweißteilchen von bestimmtem

---

[1]) Wird das Serum anstatt mit Wasser mit $^{n}/_{300}$-HCl in wechselnder Menge (4- bis 15 faches Volumen) versetzt, so erhält man eine verschieden fein abgestufte Skala von Globulinfällungen; dennoch wird nach Neutralisation und Aufsalzen das Komplement jeweils in gleicher Weise restituiert (nicht bei einem bestimmten Grade der Fällung zerstört), weil jetzt an den Teilchen keine Proteolysen stattfinden; ein Beweis, daß letzteres und nicht der Grad der Dispersitätsänderung das Wesentliche ist.

Dispersitätsgrad und Adsorbierbarkeit. Warum dieselben für gewöhnlich nur auf sensibilisierte, nicht an normale Blutkörperchen ausfallen, dürfte ebenfalls verständlich geworden sein (siehe auch Agglutination).

Auch für die „Endstück“-Wirkung haben wir bereits die physikalisch-chemischen Grundbedingungen erkannt (die in eben dieser Globulinfällung gegeben sind) und haben sie chemisch als Abbauprodukte (im weiteren Sinne des Wortes) angesprochen. Indem sie sich dank dem ausgefallenen M an der Oberfläche der Blutzellen anreichern, können sie sich mit den Membranbestandteilen, in erster Linie wohl mit den Lipoiden derselben verbinden und sie löslich machen. Hier handelt es sich somit um chemisch aktive Stoffe von besonderen, speziell gegen Lipoide gerichteten Eigenschaften.

Welcher Art diese Abbauprodukte sind, ist vorläufig noch nicht bekannt. Es wurde schon darauf hingewiesen, daß manche Eiweißabbauprodukte Lipoide in Lösung bringen. So wird, wie schon von Bayer[1]) nachgewiesen wurde, Lecithin durch Galle und Gallensäurealkalien vollständig klar gelöst. Auch manche Peptone wirken, wie wir oben erwähnt haben hämolytisch, namentlich in schwachsaurer Lösung.

Neben Eiweißabbauprodukten könnten aber auch solche von Lipoiden (Cholin und ähnliche Basen), ferner Seifen in Betracht kommen.

Für die Klärung dieser Frage nach der Natur der als E wirksamen Serumstoffe dürfte das weitere Studium der physiologischen und pathologischen Schwankungen des E-Gehaltes von Wert sein. Die wenigen bisher vorliegenden Beobachtungen, von welchen die Studien Leon Müllers (C. B. Bact. 57) die interessantesten Ergebnisse geliefert haben, haben sich auf das Gesamtkomplement, nicht auf das E allein bezogen, wodurch die Deutung der Resultate erschwert ist. Denn alle Vorgänge, die auf die Globuline (etwa im Sinne einer gesteigerten Aufspaltung derselben usw.) wirken, müssen bei dieser Versuchsanordnung mit von Belang sein (was z. B. bei den Versuchen mit Leberausschaltung gewiß von großem Einfluß war).

---

[1]) Diese Zeitschr. 5.

Während zu M-Funktion geeignete Globuline sich in allen Seren (wenn auch in wechselnder Menge) vorfinden[1]), ist größerer Gehalt an E relativ selten. Die Ursache hiervon muß nicht notwendigerweise in einem Mangel an betreffenden aktiven Stoffen liegen, es ist sogar wahrscheinlicher, daß diese bei so nahe verwandten und ähnlich ernährten Tieren, wie Kaninchen (arm) und Meerschweinchen (reich an K) in annähernd gleichen Mengen entstehen und zirkulieren dürften, hingegen bald mehr, bald weniger durch antagonistische Stoffe (z. B. durch freies Lecithin oder nach Art des Cholestearins) gebunden und dadurch verdeckt werden. Wir verweisen diesbezüglich (abgesehen von Prot. 4) auch auf das folgende Prot. 8, das zeigt, daß speziell gewisse Verbindungen (in unserem Falle glykochols. Na + Cholestearin) stark antikomplementär wirken, d. h. ein Serum rasch alles nachweisbaren K berauben.

In der Frage nach der Herkunft des K (spez. des E, denn die M-Globuline bilden nur eine Stufe der Bluteiweißkörper) kann wohl soviel schon jetzt als wahrscheinlich gelten, daß die als E wirksamen Abbauprodukte nicht das Produkt („Sekret") eines bestimmten Organs sein dürften, sondern wohl eher im Verlaufe des Zellzerfalles und Zellstoffwechsels durch den Abbau verschiedenartiger Substanzen des Körpers entstehen. Eine wesentliche Stütze erfährt diese Ansicht durch die Arbeiten von Marbé, Fassin und namentlich von L. Müller, die eine deutliche Steigerung des K-Gehaltes nach Schilddrüsenverabreichung, eine Verarmung nach Thyreoidektomie nachgewiesen haben. Die Schilddrüse ist ja, wie wir in unserer Mitteilung III

---

[1]) Was nach der von uns angenommenen Evolution der Bluteiweißkörper wohl verständlich ist. Das Vorkommen von M ist wie dasjenige von Fibrinogen auf das Plasma resp. die gerinnbare Körperflüssigkeit vieler Tierarten beschränkt, während andere Eiweißlösungen (Preßsäfte aus [blutfreien] tierischen oder pflanzlichen Organen, Eiereiweiß usw.) sie nicht besitzen. Es hängt dies damit zusammen, daß nur im Blute jene Evolution von Eiweißkolloiden sich abspielt, auf die wir in einer früheren Arbeit eingegangen sind. Dieser Umstand ist einerseits eine Notwendigkeit, gegeben durch den Zerfall und Abbau, den die Ausscheidung (Existenz von Exkretionsorganen) mit sich bringt. Er ist aber auch für den Organismus äußerst zweckmäßig, insofern er die Möglichkeit zur Blutgerinnung (Schutz gegen Verletzung) und zur Komplementwirkung (Schutz gegen Infektion) in sich schließt.

zu zeigen versucht haben, ein Organ, das den Stoffwechsel, spez. den Eiweißabbau steigert und so eine Zunahme der bei der Hämolyse wirksamen Abbauprodukte des Blutes (indirekt, vielleicht auch direkt) bedingen kann.

Die Versuche von Nolf, L. Müller u. a., die nach Ausschaltung der Leber einen raschen Schwund des K beobachteten, können dagegen nicht so gedeutet werden, als ob das K in erster Linie in der Leber seinen Ursprung hätte. Die Leber hat vielmehr die Aufgabe, viele der im Kreislauf auftretenden (aus dem Zellzerfall und der Darmresorption stammenden) Abbauprodukte aus dem Blut zu entfernen. Sie ist deshalb vorwiegend (wenn auch nicht ausschließlich) ein Organ der Synthese, ebenso wie die Schilddrüse ein Organ des Abbaues ist. Wird sie ausgeschaltet, so sammeln sich rasch so beträchtliche Mengen von Abbauprodukten im Blute an (ähnlich wie bei Phosphorvergiftung usw.), daß alle Globulinfällungen unmöglich werden, ja viele „Globuline" wie M, Fibrinogen usw. infolge weiterer Aufspaltung überhaupt verschwinden (in höher disperse Eiweißteilchen übergehen). Es kann daher geradeso wenig eine Amboceptor- oder M-Fällung als eine Fibrinogengerinnung mehr eintreten, wie die erwähnten experimentellen Arbeiten gezeigt haben. Die „antikomplementären" Substanzen decken sich hier mit den antithrombischen und sind beide nichts anderes als ein Überschuß von lösenden, den Fällungen entgegenwirkenden Abbauprodukten (z. B. die die Hämolyse hemmende Wirkung größerer Serumdosen in den Versuchen L. Müllers im Vergleich zu kleineren und viele ähnliche Beobachtungen der Fachliteratur). Auf die „Antikomplemente" überhaupt hier noch näher einzugehen — das erwähnte Beispiel ist ja nur eine unter den vielen, chemisch verschiedenartigen Ursachen einer K-Hemmung —, verbietet uns der Raum; wir verweisen aber diesbezüglich auf die allgemeinen Gesetze, die wir für die Lösung und Fällung von Eiweißkörpern als gültig nachgewiesen haben.

Für die Anreicherung der E-Abbauprodukte an Fällungsoberflächen ist es von Bedeutung, ob sie hierbei von den an diesen Flächen vorhandenen Substanzen chemisch gebunden werden oder nicht. An Blutkörperchen und Bakterien ist dies wohl (und zwar in dem Maße, als die Membranen hierbei aufgelöst werden) der Fall. Handelt es sich dagegen um Fällungen

von Art der spezifischen Präcipitate oder der Wassermannschen Reaktion, so werden die wirksamen E-Stoffe zwar auch teilweise von den entstehenden Oberflächen adsorbiert, da sie aber daselbst nicht verbraucht werden, kommt es rasch zu einem Gleichgewicht, und der Hauptteil derselben bleibt in der Lösung [Swirsky[1]) zeigte, daß das E im Abguß der Wassermannschen Reaktion und von Präcipitaten fast unvermindert angetroffen wird]. Bei der Hämolyse werden sie dagegen weitgehend verbraucht, freilich mehr in dem Sinne, wie auch sonst Abbauprodukte („Fermente") an proteolytischen Vorgängen sich beteiligen: sie werden selbst adsorbiert und chemisch gebunden, durch die von ihnen bewirkten hydrolytischen Aufspaltungen treten aber wieder neue, ähnliche Stoffe auf, die zum Teil noch eine weitere gleichartige Wirkung ermöglichen, bis schließlich die zu große Menge entstandener (wirksamer und unwirksamer) Abbaustoffe dem Prozeß ein Ende setzt.

Wir möchten hier noch auf einige Formen der K-Inaktivierung eingehen, die in der Regel zwar nur in vitro zustande kommen dürften. Die meisten derselben müssen hauptsächlich auf M-Schädigung zurückgeführt werden. So das Schütteln, das rein mechanisch zu einer Verklebung und Ausflockung von Globulinen führt, ferner die durch Adsorption wirkenden Zusätze wie Bakterien, Agar, Inulin, die nachweisbar M-Fällungen nach sich ziehen, vielleicht auch die Menge der E-Abbauprodukte (bald mehr, bald weniger) vermindern. Nach dem Abzentrifugieren enthalten solche Seren noch Teilchen, die sich, wenn auch zunächst noch stabil, durch eine ungewöhnliche Labilität auszeichnen und daher leicht zu sekundären Fällungen führen[2]) (daher vermutlich auch ihre „Anaphylatoxin"-Wirkung in vivo, siehe Mitteilung II); zusammen mit etwas stabilisierten Globulinen (schwach erhitztes Serum, „dritte Komponente") sind sie daher noch zu K-Funktion befähigt, allein aber nicht oder nur noch schlecht hierzu imstande.

„Antikomplementär" wirken ferner Lösungen von isolierten Globulinen selbst, eine Wirkung, welche natürlich nicht gegen das M des

---

[1]) Swirsky, Zeitschr. f. Immunitätsf. 5.

[2]) Siehe diesbezüglich auch Hirschfeld u. Klinger, Zeitschr. f. Immunitätsf. 21, 51, Auftreten positiver Wassermann-Reaktion in Seren nach Digerieren derselben mit Bakterien, Agar, Kaolin.

K-haltigen Serums gerichtet sein kann, sondern dadurch zustande kommt, daß dieselben die E-Abbauprodukte für sich in Anspruch nehmen. Ausgefällte Globuline sind ja arm an Abbauprodukten und daher schlecht lösbar, werden aber in Serum oder Albuminfraktion rasch fein kolloid verteilt. Darauf beruht der von Friedemann (Zeitschr. f. Hygiene 67), Hirschfeld und Klinger (Zeitschr. f. Immunitätsf. 20) u. a. studierte „Antagonismus der Globuline und Albumine, dessen Gesetzmäßigkeiten (Abhängigkeit von der Verdünnungsart usw.) aus unseren Vorstellungen erklärbar sein dürften.

Eine besondere Besprechung verlangt die K-Bindung bei der Wassermannschen Reaktion. Nach der bereits allgemein zugegebenen Ansicht handelt es sich hier um die Bildung gröber disperser Komplexe, die durch gegenseitige Adsorption von Extraktemulsion und den stark adsorptionsfähigen Globulinen des luetischen Serums zustande kommt. Diese Adsorption findet wohl auf Grund von chemischen Affinitäten statt, die der Extrakt (Lipoid mit Eiweiß- und Lipoidabbauprodukten) zu Eiweißteilchen sowohl negativer wie positiver Seren hat. Mit Antikörpern haben diese Globuline, soviel steht jetzt fest, nichts zu tun, sind auch sonst nicht durch einen besonderen chemischen Bau, sondern bloß durch ihre phys.-chem. Eigenschaften charakterisiert; wir begegnen daher dem Phänomen einer K-Bindung durch Lipoidextrakte auch öfters im nichtluetischen Serum, je nach Art und Menge des Extraktes, sowie je nach dem Labilitätszustand der Globuline (z. B. nach deren Isolierung von den Albuminen, nach ihrer Labilisierung durch Schütteln, ja auch schon physiologischerweise bei manchen Tierarten, wie Kaninchen usw.).

Gewisse, chemisch eher indifferente Zusätze, wie Cholestearin wirken steigernd auf die M-Bindung der Extraktemulsion, weil sie die Größe der entstehenden Fällungen vermehren. Wie sehr die chemische Natur der oberflächlich (am Lipoid) adsorbierten Stoffe und Größe des Dispersitätsgrades der reagierenden Extrakt- und Globulinteilchen bei der K-Bindung eine Rolle spielt, ist aus der großen Speziallіteratur der Wassermannschen Reaktion genügend bekannt. Wir bringen ein diesbezügliches Protokoll, das wegen der Einfachheit der beteiligten Stoffe die Vorstellung dieser Beziehungen anschaulicher machen kann:

Versuch 8.

Folgende 4 Lösungen werden auf ihr K-Bindungsvermögen (ohne andern Serumzusatz) verglichen:

A. Glykochols. Na, 1 : 10 in Alkohol gelöst, davon 1 auf 10 phys. NaCl-Lösung durch rasches Einspritzen verteilt;

B. ebenso emulgierte Lösung von Cholestearin 0,2 % in Alkohol, 1 : 10 NaCl-Lösung;

C. Mischung von gleichen Teilen A und B, beide in Alkohol, davon 1 : 10 in phys. NaCl-Lösung emulgiert (enthält somit nur 1/2 der aktiven Stoffe wie A und B);

D. die schon wässerigen Lösungen A und B āā gemischt.

Fallende Mengen von A bis D auf 1,0 mit NaCl-Lösung ergänzt, Zusatz von 1,0 20fach verd. Meerschweinchenserum und nach 15′ sensibilisiertes Blut:

Nr.	Art der Lösung	Menge der Lösung		
		1,0	0,5	0,25
A	Glykochols. Na allein	180′ k	18′ wg 25′ k	15′ stark 18′ k
B	Cholestearin allein	18′ k	18′ k	20′ k
C	A + B (in Alkohol gemischt)	0	0	0
D	A + B (in Wasser gemischt)	0	180′ Spur	15′ stark 20′ k

Kontrolle (Meerschweinchenserum ohne Zusatz): 15′ k.

Die K-hemmende Wirkung des glykochols. Na wird durch Bindung desselben an das Cholestearin sehr stark gesteigert, obwohl die Mischung beider Stoffe sich in NaCl-Lösung fast klar löst, während Cholestearin allein (sowie Mischung D) stark trüb sind. Vermutlich hat die fällende Eigenschaft des glykochols. Na durch die teilweise Absättigung desselben an dem Cholestearin zu-, seine eiweißlösende Fähigkeit entsprechend abgenommen.

Für den Grad, in welchem bei den verschiedenen, im vorhergehenden besprochenen Fällungen das K-Mittelstück mit einbezogen wird, ist von Bedeutung, wie der betreffende K-bindende Niederschlag zustande kommt. Tritt die Fällung von „Antigen“ und „Antikörper“ sehr rasch ein (z. B. bei Verwendung von relativ viel Antigen bei spezifischen Präcipitationen), so wird nach Dean fast kein K gebunden; bei langsamer Entstehung der Fällung (relativ viel Antikörper) dagegen weit mehr. Die Oberflächen der entstehenden Niederschläge sind das eine Mal wenig, das andere Mal viel mehr befähigt, noch andere Globuline zu adsorbieren. Die „optimale“ Größe der Teilchen

und ihre Neigung, weitere Globuline an sich zu reißen, sind somit für die Intensität der K-Bindung entscheidend.

Auf die interessanten Arbeiten von Sachs und Altmann über den Einfluß, den Kälte und Wärme, Zusatz von Säure und Alkali auf die K-Bindung bei der Wassermannschen Reaktion ausüben, auf ähnliche Versuche von Ritz und Sachs bei der Zerstörung des K durch Bakterien, auf die Arbeit von Nathan, in der er nachweisen konnte, daß einige Zeit bei 37° durch Salzsäure aufgespaltenes Serum gegenüber globulinfällenden Eingriffen (Wasser- oder Kobragiftzusatz) stabiler geworden ist und viele ähnliche Befunde können wir leider nicht näher eingehen und müssen uns auf die Analyse der oben untersuchten Phänomene beschränken. Wir verweisen daher auf die erwähnten Arbeiten[1]) und möchten nur hervorheben, daß auch diese Autoren zu der Ansicht gekommen sind, daß diese Vorgänge mit der Beschaffenheit (Stabilität) der Globuline in Zusammenhang stehen. Es dürfte wohl nicht schwer fallen, die bei jeder einzelnen Versuchsanordnung erhaltenen Ausschläge auf die im vorhergehenden als wesentlich erkannten Momente zurückzuführen und zu einer befriedigenden Erklärung zu gelangen.

Eine Besonderheit der K-Wirkung, auf die wir zum Schlusse noch eingehen müssen, ist die Hemmung, die dieselbe durch gewisse Salze, wie Na-Citrat, Na-Oxalat, $CaCl_2$ usw. erfährt. Sobald dieselben in isotonischen Konzentrationen an Stelle des üblichen NaCl zur Verdünnung des Serums usw. verwendet werden, bleibt die Hämolyse aus oder wird deutlich herabgesetzt. Von der K-Hämolyse wurde dies zuerst von Bordet und Gay festgestellt; aber auch für alle anderen Globulinfällungen gilt das gleiche [Hirschfeld und Klinger[2])]. So tritt die Inaktivierung von K-haltigem Serum durch Bakterien, Inulin, Kobragift usw. im Citrat- oder Oxalatmedium nicht oder wesentlich langsamer ein. Es war daher anzunehmen, daß auch in bezug auf die K-Hämolyse nicht deren zweiter Akt, nämlich die Abbauvorgänge an der Membran[3]), sondern die für die E-

---

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsf. 26.

[2]) Diese Zeitschr. 70, 405 bis 407. Die früher von uns hierfür gegebene Erklärung muß natürlich fallen gelassen werden.

[3]) Versuche, ob die Eiweißabbauvorgänge durch diese Salze gehemmt werden, haben ergeben, daß dies nicht der Fall ist. Nur bei

Wirkung notwendige M-Globulinfällung gestört sein dürfte. In der Tat läßt sich leicht zeigen, daß diese Salze die Persensibilisierung verhindern. Wenn man frisch ausgefälltes M in einer kleinen (dem ursprünglichen Serumvolumen entsprechenden) Menge von NaCl-Lösung auflöst und davon die gewöhnlichen Dosen (0,1 bis 0,02) mit oder ohne E auf sensibilisiertes Blut einwirken läßt in einem Medium, das anstatt physiol. NaCl-Lösung eine 2 %ige Na-Citrat- oder eine 1 %ige Na-Oxalat- oder $CaCl_2$-Lösung enthält, so läßt sich feststellen, daß unter diesen Bedingungen jede Persensibilisierung oder K-Wirkung ausbleibt resp. (bei $CaCl_2$ und Oxalat) deutlich verzögert und abgeschwächt zustande kommt.

Die Erklärung dieses Phänomens ist darin gegeben, daß diese Salze die Globuline zu sehr stabilisieren, so daß dieselben nicht mehr ausfallen, wenn sie mit sensibilisierten (oder sonst fällend wirkenden) Antigenen zusammenkommen. Daß diese Annahme zutrifft, läßt sich leicht durch folgenden Versuch ad oculos demonstrieren: Man stellt sich aus Menschen- oder Rinderserum eine Globulinfällung her (durch Verdünnen mit $^{n}/_{300}$-HCl) und schwemmt die durch Zentrifugieren isolierten Globuline in destilliertem Wasser zu einer milchweißen homogenen Emulsion auf. Hierauf werden 4 Röhrchen mit je 2,0 einer NaCl-, Citrat-, Oxalat- und $CaCl_2$-Lösung (Konzentrationen siehe oben) gefüllt und von der Globulinemulsion jeweils dieselbe Menge (zuerst 0,4, hierauf stets 0,2 ccm) in jedes Röhrchen abgefüllt. Man schüttelt jedesmal nach Zusatz weiteren Globulins um und beobachtet die Lösung desselben. Zuerst erfolgt dieselbe überall schnell, bald aber bleibt die NaCl-Lösung zurück; hier verschwindet die Trübung schon mit viel weniger Globulin nicht mehr als beim $CaCl_2$, dieses wird wieder eher (resp. stärker) trüb als das Oxalatröhrchen. Bei weitem am meisten vermag aber die Citratlösung zu lösen, sie ist meist noch vollständig klar, wenn in NaCl schon starke Trübung besteht. Die Salzlösungen vermögen somit Globuline in ungleichem Maße zu lösen (infolge von Salzverbindungen feiner kolloidal zu verteilen), und diese Fähigkeit geht, wie sich im genauern

---

Ersatz des Salzes durch Zucker scheint dies nach unseren bisherigen Versuchen einzutreten.

Versuch erkennen läßt, ihrem Hemmungsvermögen bei Globulin-Fällungsreaktionen vollständig parallel. (Auch hier wirkt Citrat stets am ausgesprochensten [meist absolut hemmend]).

In Zuckerlösung (z. B. 6 $^0/_0$ Traubenzucker) bleibt umgekehrt jede Globulinlösung aus. Reaktionen, bei denen eine Globulinfällung von Vorteil ist, werden deshalb in Zuckerlösung (salzfreiem Medium) deutlich begünstigt, wie z. B. die Persensibilisierung von Blut durch Hammelserum, die Konglutination durch Rinderserum, die Kobrahämolyse u. a. Daß manche Blutarten, auf die Kobragift direkt nicht lösend wirkt, in Zuckerlösung von diesem Toxin dennoch hämolysiert werden, beruht zweifellos darauf, daß unter diesen Bedingungen die im Gift enhaltenen globulinartigen Körper intensiver niedergeschlagen werden, wodurch den hydrolytisch wirkenden Abbauprodukten des Giftes die Möglichkeit zu ihrer Anreicherung an den Oberflächen geboten ist. — Die K-Hämolyse wird in Zuckerlösung ebenfalls gehemmt, vermutlich weil hier die Globulinfällung einen zu hohen Grad erreicht und anstatt eine Anreicherung der E-Abbauprodukte an die Blutkörperchen eine Zerstreuung derselben an die zu massige Fällung eintritt. Es ist ja bekannt, daß durch Verdünnung mit Zuckerlösung ebenso eine Trübung und Inaktivierung des K-haltigen Serums erfolgt, wie durch Wasserzusatz.

Die soeben besprochenen Versuche zeigen, daß für die Löslichkeit der Globuline und daher auch für deren Befähigung zu gewissen serologischen Reaktionen nicht nur Abbauprodukte, sondern auch die Salze (als Salzverbindungen) von wesentlicher Bedeutung sind.

Man hat bisher die gerinnungshemmende Wirkung des Citrat-, Oxalat- oder Fluoridzusatzes nur immer auf die Kalk-fällende oder doch -bindende Wirkung dieser Salze bezogen. Die vorhergehenden Tatsachen werden diese Ansicht etwas modifizieren müssen, insofern es wohl nicht zweifelhaft sein kann, daß neben dieser Eigenschaft noch die hohe globulin-(und daher auch fibrinogen-)lösende Fähigkeit dieser Salze der Fibrinausscheidung entgegenwirkt.

Zusammenfassung.

1. Die Hämolyse beruht auf der Aufhebung der Semipermeabilität der Blutkörperchenmembranen. Dieselbe kann entweder durch mechanische Momente (plötzliches Einbringen in

hypo- oder hypertonisches Medium, Eintrocknen usw.) oder auf chemischem Wege erfolgen. Die chemischen Hämolytica sind entweder direkte Lösungsmittel (spez. der die Membran abdichtenden Lipoide) oder sie wirken hydrolytisch aufspaltend auf die Membranbestandteile, auf die Lipoide oder Eiweißkörper derselben (häufig auf beide).

2. Für die Agglutination der Erythrocyten gelten dieselben Gesetzmäßigkeiten, wie für diejenigen von Bakterien und anderen „hydrophilen" Suspensionen; sie tritt immer ein, wenn das Wasserbindungsvermögen der Oberflächen herabgesetzt (Metallsalze, Kolloidniederschläge usw.) oder sonst das Wasser entzogen wird.

3. Bei der Komplementwirkung sind zwei wesentlich verschiedene Vorgänge unterscheidbar: 1. die „Mittelstück"-Funktion, diese ist eine Globulinfällung, die die Oberflächen der Blutzellen für die Aufnahme und lokale Anreicherung gewisser im Serum enthaltener Abbauprodukte, des sogen. Endstückes, geeignet macht („Persensibilisation"). 2. Die Endstück-Funktion, diese bewirkt die eigentliche Lösung durch die hydrolytische (oder direkt lösende) Wirkung der in der Albuminfraktion befindlichen Abbauprodukte.

4. Die meisten Einflüsse, welche die K-Funktion hemmen oder zerstören, gehen auf Veränderungen der Globuline zurück, wodurch dieselben zu sehr stabilisiert und daher zu Fällungen weniger geeignet werden (Verdünnung mit Wasser, Brandsche Modifikation, Zusatz von Citrat-, Oxalatsalzen usw., von Lauge oder Säure, Erhitzen u. ähnl.). Andere Eingriffe wirken dadurch „antikomplementär", daß sie durch vorhergehende Fällungen („Bindung") die betreffenden Globuline aus dem Serum entfernen (globulinfällende Zusätze, wie Bakterien, Agar, Kobragift, Extrakte der Wassermannschen Reaktion).

Zur Physiologie des Blutzuckers.

I. Untersuchungen über Bangs Mikromethode zur Zuckerbestimmung.

Von

Richard Ege.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 19. Dezember 1917.)

Mit 2 Figuren im Text.

Die Hauptursache dafür, daß man innerhalb der Blutzuckerliteratur auf so viele unübereinstimmende Resultate stößt, ist sicherlich in der verschiedenartigen Methodik zu suchen, zuvörderst in betreff der fundamentalsten Frage, nämlich der Zuckeranalyse selbst.

Bei Zuckerbestimmungen kommen drei verschiedene Analyseverfahren in Anwendung: Polarisation, Reduktion, Gärung.

Die einzige dieser Methoden, die spezifischer Natur ist, ist die Gärungsmethode[1]). Es liegt somit nahe, sie den beiden anderen Methoden vorzuziehen, aber die Gärungsmethode eignet sich, wie aus der Literatur hervorzugehen scheint, nicht als Präzisionsverfahren; jedenfalls führten eine Reihe von Versuchen, die darüber angestellt wurden, zu einem negativen Resultat. Übrig bleiben die beiden anderen Methoden: Polarisation und Reduktion; von beiden gilt aber, daß sie nicht spezifisch sind, indem eine Reihe anderer Stoffe optisch aktiv sind oder alkalischen Metallsalzlösungen gegenüber ein reduzierendes Ver-

---

[1]) Das Gärungsvermögen ist jedoch auch nicht eine absolut spezifische Reaktion für Zucker; nach Neuberg sind auch gewisse andere Stoffe imstande, mit Hefe CO_2 zu entwickeln (siehe Neuberg, „Der Harn", S. 362) und diese Zeitschr **1911** bis **1917**.

mögen besitzen. Eine tatsächlich exakte Zuckeranalyse darf sich daher, wenn von Flüssigkeiten unbekannter Zusammensetzung die Rede ist, nicht auf eine einzelne Polarisations- oder Reduktionsbestimmung beschränken; vielmehr muß die Zuckermenge als die Differenz zwischen dem Polarisations- oder Reduktionsvermögen vor und nach quantitativer Entfernung der Zuckermenge der Flüssigkeit bestimmt werden.

Die einzige Weise, in der man den Zucker entfernen kann, ist ihn wegzugären. Solange man also von der Natur der Flüssigkeit nichts Näheres weiß, muß sowohl das Drehungs- als das Reduktionsvermögen vor und nach der Gärung bestimmt werden; aber selbst wenn die Zuckeranalyse in der Weise ausgeführt wird, ist es noch eine offene Frage, ob der Methode systematische Fehler anhaften oder nicht. Wenn diese Differenzbestimmung absolute Werte des Zuckergehaltes ergeben soll, sind folgende Ansprüche zu stellen:

1. Die Hefe muß imstande sein, unter den vorhandenen Versuchsbedingungen den Zucker quantitativ zu entfernen.

2. Die Hefe darf nicht selbst optisch aktive oder reduzierende Stoffe bilden.

3. Während der Gärung dürfen (ob es eine Folge des Hefenzusatzes oder nur eine Folge des Stehenlassens ist, ist ohne Bedeutung) keine Prozesse stattfinden, die andere Veränderungen des Drehungs- oder Reduktionsvermögens der Flüssigkeit veranlassen könnten.

Diese Fragen sind vielfach erörtert worden; eine quantitative Entscheidung liegt aber noch nicht vor.

Eine nähere Untersuchung über diese Fragen wird in einem späteren Aufsatz über die Restreduktion veröffentlicht werden; hier wollen wir nur die Analysemethode selbst näher besprechen.

Als Analysemethode benutze ich die Reduktionsmethode; theoretisch betrachtet sind die Reduktionsmethode und die Polarisationsmethode im großen Ganzen bei Differenzbestimmungen gleich anwendbar. Was mich zuvörderst veranlaßt hat, die Reduktionsmethode vorzuziehen, ist, daß sie in der von mir benutzten Gestalt — Bangs Mikromethode — sehr einfach ist; zudem zeichnet sie sich namentlich vor anderen Methoden dadurch aus, daß sie mit ganz minimalen Zucker-

mengen und infolgedessen mit ganz minimalen Zuckerkonzentrationen arbeiten kann. Der Fehler einer Bangschen Titrierung war aber ursprünglich recht groß; so schreibt Bang („Der Blutzucker", S. 26): „Die Fehlergrenze ist etwa 0,01 bis 0,02 mg, ... demnach müßte man bei Blut bei Anwendung von 100 mg Blut mit einem Gehalt von 0,01 mg Zucker Werte von 0,09 bis 0,11 % statt 0,10 % finden können"[1]).

Diese Genauigkeit wird zwar in der Regel in der Klinik völlig genügen, für das Studium einer Reihe Probleme innerhalb der Physiologie des Blutzuckers aber ganz ungenügend sein. In den „Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile" (1916) gibt Bang indessen eine neue Extraktionsmethode kund und macht gleichzeitig auf die Fehler und Fehlerquellen der Methode aufmerksam.

Im Jahre 1913 schrieb Bang von der Kochintensität, daß mehr als 1 Minute und weniger als 2 Minuten verstreichen müsse, bevor die Flüssigkeit zu kochen anfange; von hier an wird die Kochzeit gerechnet, die 2 Minuten dauern soll. Eine Abweichung von 5 Sekunden nach der einen oder anderen Seite hin ist ohne Bedeutung.

Begnügt man sich hiermit, wird der Fehler, wie aus dem Folgenden hervorgehen wird, leicht 10 % oder mehr betragen.

In den „Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile" macht Bang indessen selbst darauf aufmerksam, daß die wesentlichste Fehlerquelle sicherlich in Schwankungen der Kochintensität besteht. Von Kochzeit und Kochintensität schreibt er nun, daß die Kochzeit nicht mehr als 2 Sekunden nach der einen oder anderen Seite hin abweichen darf. Die Flammenhöhe (Intensität) soll so eingestellt werden, daß die Flüssigkeit 90 Sekunden gebraucht, um zu kochen anzufangen; eine Abweichung von 5 Sekunden nach beiden Seiten hin ist das höchste, was man sich gestatten darf.

Dadurch wurde man auf die Fehler der Methode aufmerksam; es fragt sich nun nur, ob es möglich ist, sie zu vermeiden.

Am leichtesten stellt es sich natürlich mit der genauen

---

[1]) Die wahren Fehlergrenzen sind jedoch natürlicherweise 0,08 bis 0,12 %.

Dauer der Kochzeit, wenn man auch leicht Fehler von mehr als 2 Sekunden nach beiden Seiten hin begehen kann. Teils ist es schwer, zu entscheiden, wann die Flüssigkeit tatsächlich kocht, teils kann die Flüssigkeit überhitzt werden, so daß die Reduktion angefangen hat, bevor die Flüssigkeit kocht, und schließlich kann leicht eine etwas variable Zeit verstreichen, indem die Flüssigkeit unter dem Wasserhahn so stark abgekühlt ist, daß die Reduktion aufhört. Wenn es nun auch möglich ist, die Kochzeit innerhalb eines Zeitraumes von 4 Sekunden zu regeln, ergibt dies, wie wir später sehen werden, einen Fehler von 4%.

Was die Flammenhöhe betrifft, so ist es, wenn eben nicht schwer, so doch sehr zeitraubend, sie so einzustellen, daß die Flüssigkeit eben in 90 Sekunden zu kochen anfängt. Der Gasdruck in unserem Laboratorium — und etwas Ähnliches gilt wohl überall — schwankt nämlich derart, daß man sich entweder damit begnügen muß, zu ganz bestimmten Zeiten des Tages zu titrieren, oder man muß auch die Flamme zu wiederholten Malen im Laufe des Tages einstellen.

Auch diese Maßregeln genügen kaum vollständig; der Gasdruck schwankt, und zwar innerhalb ganz kurzer Zeiträume, recht bedeutend, so daß es möglich ist, daß die Intensität während des Kochens sehr wohl verkehrt sein kann, wenn das Kochen auch ganz richtig nach einer Erwärmung von 90 Sekunden begonnen hat.

Es fragt sich nun, wie diese Fehler vermieden werden können.

Das beste Mittel wäre natürlicherweise, den Einfluß, den Kochzeit und Intensität auf die Reduktion ausüben, zu beseitigen oder zu vermindern.

Der große Einfluß, den Kochzeit und Intensität auf das Resultat ausüben, muß sicherlich bedeuten, daß der Reduktionsprozeß nicht in der angewandten Zeit beendigt worden ist. Kocht man länger, muß man annehmen, daß der Zucker in höherem Grade oxydiert, und es ist wahrscheinlich, daß man eine Kochzeit finden können muß, bei der der Zucker vollständig oder fast vollständig oxydiert, so daß das Resultat sowohl von der Kochzeit als von der Kochintensität einigermaßen unabhängig wird.

Bei Bangs Titrierung verhält es sich so, daß eine bestimmte Jodlösung nicht einer bestimmten Zuckermenge entspricht. Kocht man 2 Minuten lang, entspricht 1 ccm $^{n}/_{200}$-Jodlösung einer gewissen Menge Zucker, kocht man 3 Minuten, einer ganz anderen Menge.

Untenstehende Tabelle und Kurve (Fig. 1) verzeichnen die Zuckerwerte für $^{n}/_{200}$-Jodlösung bei verschiedenen Kochzeiten. An der Abszisse ist die gesamte Erwärmungszeit (nicht Kochzeit) in Minuten, an der Ordinate mg Glucose[1]) abgesetzt.

Erwärmt	man	3 Min.	lang,	entspricht	1 ccm	$^{n}/_{200}$-Jodlösg.	0,66	mg
„	„	4 „	„	„	„ „	„	0,34	„
„	„	5 „	„	„	„ „	„	0,22	„
„	„	6 „	„	„	„ „	„	0,178	„
„	„	7 „	„	„	„ „	„	0,161	„
„	„	8 „	„	„	„ „	„	0,151	„
„	„	9 „	„	„	„ „	„	0,143	„

Weiter habe ich die Erwärmung nicht fortgesetzt. Um 9 Minuten lang erwärmen zu können, ohne daß die Flüssigkeit dadurch so konzentriert wird, daß es zu einer Salzausscheidung kommt, habe ich zu 10 ccm Salzlösung 5 ccm H_2O gesetzt.

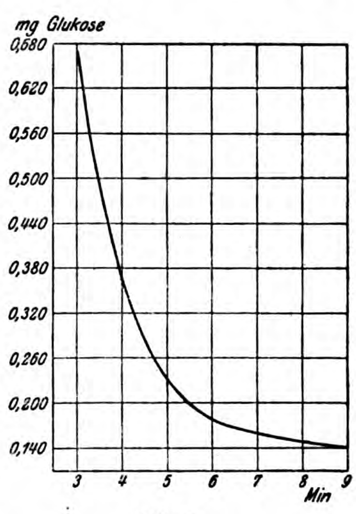


Fig. 1.

Will man länger kochen, muß man mehr Wasser zugeben, aber in dem Falle scheint das Kupferoxydul sich nicht länger gelöst erhalten zu können. Die Flüssigkeit wird bräunlich, und es setzt sich ein bräunliches Häutchen am Boden des Kolbens ab. Es scheint ganz deutlich hervorzugehen, daß es einen sehr großen Vorteil bezeichnen wird, eine längere Kochzeit zu wählen als die von Bang angegebene. Bang hat selbst einige

[1]) Die gefundene Kurve ist eine Hyperbel; die eine Asymptote ist der Abszissenachse parallel und schneidet die Ordinate in Punkt 0,124 mg. (Die Berechnung wurde ausgeführt von stud. polyt. Louis Ege.)

Untersuchungen hierüber angestellt, kommt aber merkwürdigerweise zu dem Resultat, daß man nicht länger als 2 Minuten kochen soll. Darüber heißt es bei Bang[1]): „Man könnte sich vorstellen, daß es wünschenswert wäre, eine stärkere Reduktion per Dezimilligramm Zucker zu erzielen. Dies ist auch nicht schwer zu bewerkstelligen. Man braucht nur die Kochzeit etwas länger — 3 Minuten — auszudehnen.“ Bang führt sodann folgende Zahlen an:

Glucose . . . . mg	0,05	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50
Kochzeit 2 Min. $^n/_{200}$-Jodlösg. "	0,18	0,26	0,47	0,69	0,91	1,12
Kochzeit 3 Minuten . . . . "	0,18	0,29	0,57	0,80	1,12	1,40

und schließt daraus, daß es keinen Vorteil darbietet, eine längere Kochzeit als 2 Minuten zu benutzen, da der vermehrte Jodverbrauch bei dem längeren Kochen nur gering ist, wo von den gewöhnlich vorkommenden Zuckermengen die Rede ist, aber namentlich, da wir die absolute Proportionalität, die sich bei einer 2 Minuten langen Kochzeit zwischen der Zuckermenge und dem verbrauchten Jod findet, bei einer Kochzeit von 3 Minuten nicht wiederfinden. Wenn dies richtig wäre, bedeutet es, daß die von mir S. 83 über den Einfluß der Kochzeit auf den Reduktionsprozeß angeführte Tabelle und Kurve keine allgemeine Gültigkeit besitzen; in dem Falle ist der Vorteil einer Benutzung der längeren Kochzeit nicht unmittelbar gegeben. So liegt die Sache aber nicht.

Wie ich später dartun werde, findet sich bei der Anwendung einer Reduktionszeit (Erwärmungszeit plus Kochzeit) von 8 Minuten eine vollständige Proportionalität zwischen der verbrauchten Jodmenge und der vorhandenen Zuckermenge; da dasselbe nach Bangs Angaben bei der von ihm angewandten Kochzeit der Fall ist, ist dies ein indirekter Beweis dafür, daß die S. 81 angeführte Reduktionskurve für jede beliebige Zuckerkonzentration gilt.

Um noch einen direkten Beweis dafür zu erhalten, habe ich die Abhängigkeit der Reduktion von der Kochzeit für eine Reihe von verschiedenen Zuckerkonzentrationen bestimmt. Untenstehende Tabelle zeigt, daß der Einfluß der Kochzeit auf

[1]) Ivar Bang, Ein Verfahren zur Mikrobestimmung von Blutbestandteilen. Diese Zeitschr. 49, 1913.

die Reduktion ganz derselbe ist, mit welcher Zuckerkonzentration man auch arbeitet (innerhalb der recht weiten Grenzen, für die Untersuchungen vorliegen). Die Resultate finden sich in untenstehender Tabelle wiedergegeben:

A = 0,2255 mg Glucose Reduktionsprozentsatz

Erwärmt	n/200-Jodlösg.	do. reduziert[1])	gefunden	n/200-Jodlösg. berechnet[2])
7	1,54	1,39	100[2])	
5 1/2	1,25	1,13	81,5	
3 3/4	0,82	0,71	51,0	
3 1/4	0,66	0,55	39,6	
B = 0,1122 mg				
7	0,84	0,69	100	0,69
5 1/2	0,69	0,57	82	0,56
3 3/4	0,48	0,37	53,7	0,35
C = 0,0451 mg				
7	0,42	0,28	100	0,28
5 1/2	0,34	0,23	82	0,23
3 3/4	0,26	0,15	53,5	0,15
D = 0,0226 mg				
7	0,28	0,13	100	0,13
5 1/2	0,24	0,12	92	0,11
3 3/4	0,19	0,08	61	0,07
3 1/4	0,17	0,06	46	0,05
Blindwert				
7		0,15	100	0,15
5 1/2		0,12	80	0,12
3 3/4		0,11	73	0,08
3 1/4		0.11	73	0,06

Aus der Tabelle geht ganz deutlich hervor, daß die Abhängigkeit des Reduktionsprozesses von der Kochzeit für sämtliche untersuchte Zuckerkonzentrationen dieselbe ist.

Es ist einleuchtend, daß es nicht gleichgültig ist, welche

[1]) Die Reduktion besteht nur in Subtraktion des der Kochzeit entsprechenden Blindwertes.

[2]) Die Berechnung ist ausgeführt unter der Voraussetzung, daß die für die stärkste Zuckerlösung gefundenen Reduktionsprozentsätze allgemeine Gültigkeit haben; bestimmt man also das Reduktionsvermögen für eine andere Zuckerlösung nach 7 Minuten Erwärmung, kann man deren Reduktionsvermögen nach jeder beliebigen Erwärmungszeit berechnen. Die berechneten Werte stimmen sehr gut mit den gefundenen überein.

Reduktionszeit man wählt; aus der Kurve geht hervor, daß man so lange kochen soll, daß der Wert für 1 ccm $^{n}/_{200}$-Jodlösung um 0,150 mg Glucose, jedenfalls unter 0,200 mg zu liegen kommt.

Benutzt man Bangs Kochzeit und Intensität, entspricht 1 ccm $^{n}/_{200}$-Jodlösung 0,250 mg; dieser Wert liegt, wie man sehen wird, am steilen Teil der Kurve. An der Kurve kann man die einem Kochzeitfehler von 1 Sekunde für die verschiedenen Werte entsprechenden Fehler direkt ablesen.

Für den Wert 0,250 (Bang) beträgt er 0,7%[1]), für den Wert 0,150 beträgt er 0,1%.

Was von der Kochzeit gilt, gilt sicherlich auch von der Kochintensität.

Während die Intensitätsveränderung sich sehr stark geltend macht bei der kurzen Kochzeit, wo die Reduktion annehmbar nur teilweise beendigt sein kann, wird ihr Einfluß sicherlich bedeutend geringer sein bei der längeren Kochzeit, wo der Reduktionsprozeß, wie aus der Kurve hervorgeht, einigermaßen vollständig verlaufen ist.

Aber auch hier ist eine Veränderung der Kochintensität von wesentlicher Bedeutung, wie aus untenstehendem Versuch hervorgeht.

I. 1 ccm Zuckerlös. 7 Min. erwärmt über normaler Flamme = 1,04 ccm
II. 2 „ „ $2^1/_2$ „ „ „ „ „
sodann $4^1/_2$ „ über kleiner Flamme (die Flüssigkeit fortwährend kochend) im ganzen 7 Minuten . . . . = 0,82 „

I. 1 ccm Zuckerlös. 5 Min. erwärmt über normaler Flamme = 0,79 „
II. 1 „ „ $2^1/_2$ „ „ „ „ „
sodann $2^1/_2$ „ über einer sehr kräftigen Flamme, im ganzen 5 Minuten . . . . = 0,88 „

---

[1]) Befolgt man Bangs Vorschrift, ist der Fehler in der Tat noch ein wenig größer; obengenannter Fehler gilt nur von der Kochintensität, die ich anwende; um zu dem Wert 0,250 zu gelangen, kocht Bang 2 Minuten lang, ich 3 Minuten lang. Der Fehler muß daher bei Bang noch größer sein, sicherlich gleich $0,7 \cdot {}^3/_2$ = ca. 1% für jede Sekunde Kochzeitfehler.

Wenn es sich hier auch um recht extreme Schwankungen der Kochintensität handelt, zeigen die Versuche doch deutlich genug, daß es für die Erzielung genauer Resultate notwendig ist, eine ganz bestimmte Kochintensität zu beobachten.

Dies läßt sich am sichersten und leichtesten bewerkstelligen, wenn man einen Gasregulator in der Gestalt eines Überlaufventils anwendet, wie in Fig. 2 dargestellt.

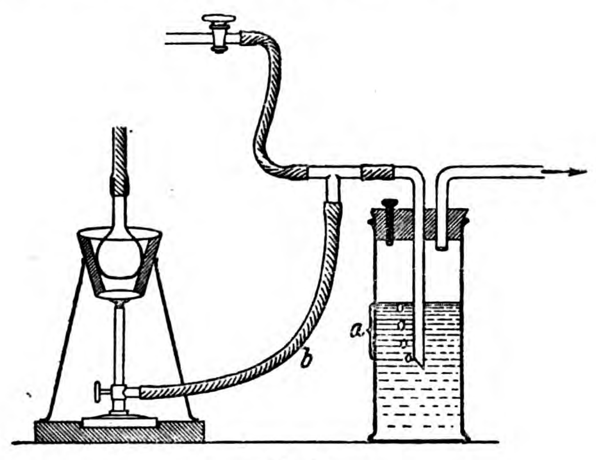


Fig. 2.

Aus der Figur ersieht man leicht, daß man bei dieser Versuchsanordnung immer bei einem ganz bestimmten Gasdruck arbeiten wird; man öffnet nur den Hahn so viel, daß fortwährend durch das Überlaufventil Gas in Blasen ansteigt; in dem Falle ist der Gasdruck, bei dem das Gas zur Lampe strömt, konstant *a* mm Wasserdruck, vollständig unabhängig von den Schwankungen des Gasdruckes in der Leitung.

Das durch das Überlaufventil herausströmende Gas wird entweder in die freie Luft hinausgeleitet oder verbrannt; in beiden Fällen muß man weite Röhren anwenden, damit dem Gas nicht Widerstand geleistet werden soll. Das Gas darf daher nicht in einer gewöhnlichen Lampe verbrannt werden, sondern muß, indem es durch eine weite Glasröhre herausströmt, angezündet werden. Eine angemessene Flammenhöhe erhält man teils durch Variation der Wasserhöhe *a*, teils durch Einschaltung eines Widerstandes — einer ausgezogenen Glas-

röhre — in die Leitung *b*. Statt Drahtnetz benutze ich Baboblech; Lampe, Gestell und Baboblech sind im Verhältnis zueinander fixiert, so daß man damit rechnen kann, daß die Flamme immer in derselben Weise auf den Kolben wirkt.

Hat man ein für allemal die Flamme eingestellt, wird diese Einstellung sich unverändert erhalten können, wenn man nur die Wasserhöhe im Überlaufventil kontrolliert. Sicherheitshalber muß man doch ab und zu die Einstellung mit bekannten Zuckerlösungen kontrollieren.

Man bestimmt sodann rein empirisch mittels einer Zuckerlösung bekannter Stärke, wie lange man kochen soll, damit 1 ccm einer $^{n}/_{200}$-Jodlösung ca. 0,150 mg Glucose entsprechen soll.

Wenn man mittels eines Überlaufventiles erreicht hat, daß die Gasflamme immer genau dieselbe ist, halte ich es für sicherer, die Kontrolluhr in dem Augenblick in Gang zu setzen, in dem man den Kolben über die Flamme setzt, statt in dem Augenblick, wo die Flüssigkeit zu kochen anfängt, indem dieser Zeitpunkt nicht mit so großer Genauigkeit bestimmt werden kann wie der Moment, wo die Erwärmung beginnt. Die Zahl, die ich als Reduktionszeit anführe, ist daher nicht die Kochzeit, sondern die ganze Erwärmungszeit.

Bei der von mir angewendeten Kochintensität, bei der die Flüssigkeit (11 ccm Salzlösung + 5 ccm H_2O + 1 ccm CuOlösung) in ca. 105 Sekunden zum Kochen gebracht wird, wird eine Reduktionszeit von 8 Minuten einen Titerwert von 0,150 ergeben.

Damit Bangs Mikrozuckertitrierung genaue Resultate ergeben soll, ist es erforderlich:

1. eine längere Reduktionszeit anzuwenden,
2. einen Gasregulator einzuführen,
3. die Analysen stets in genau derselben Weise auszuführen.

Letzteres ist neuerdings von Rydgaard eingeprägt worden[1]), aber ich betrachte es doch, wie wichtig es auch sein mag, als bei weitem nicht hinreichend.

Eine Reduktionsmethode, die in dem Grade von Kochzeit und Kochintensität abhängig ist, daß gar eine Abweichung

---

[1]) Frode Rydgaard, Nogle Bemaerkninger om Blodsukkerbestemmelsernes Teknik etc. Ugeskrift for Laeger 1916, Nr. 48.

von 1 Sekunde einen Fehler von ca. 1 % ergibt, ist sehr schwer als Präzisionsmethode anzuwenden.

Um die Bedeutung davon, daß die Analysen stets in genau derselben Weise ausgeführt werden, noch mehr hervorzuheben, führe ich nur an, daß ein so geringer Unterschied wie entweder die Kohlensäure, nachdem man den Schlauch abgenommen hat, hinzuzuleiten, so wie dies von Bang empfohlen wird, oder die Kohlensäure in den Schlauch hinabzuleiten, bevor die Klemme entfernt wird, einen Unterschied von ca. 10 % ergibt, wie dies durch untenstehende Analysen veranschaulicht wird.

A. 2 ccm Glucoselös. Reduktionszeit 8 Minuten. CO_2 wird in den Schlauch hinabgeleitet, bevor die Klemme entfernt wird = 2,224

B. 2 „ „ Reduktionszeit 8 Minuten. Die CO_2-Zubereitung beginnt unmittelbar, nachdem die Klemme geöffnet und der Schlauch abgenommen ist . . . . = 2,05

2 „ . . . . = 2,06

Ich habe, wie Rydgaard, vorgezogen, die Kohlensäure hinzuzuleiten, bevor die Klemme entfernt wird, da ich meine, daß dies das Sicherste sein wird; ob man aber in der einen oder anderen Weise verfährt, ist nicht das Wesentliche; das, worauf es ankommt, ist, es stets in derselben Weise zu tun; man darf nicht bald die Kohlensäure hinzuleiten, bevor die Klemme entfernt wird, bald danach, und namentlich darf man nicht die Jodlösung in einer Weise einstellen und die Zuckeranalyse in einer anderen Weise bewerkstelligen, denn dann ist es natürlicherweise unmöglich, absolute Werte zu erhalten, wie übereinstimmend die Analysen auch sein mögen.

Ein anderes Beispiel davon, wie wenig erforderlich ist, um das Resultat durchaus zu vereiteln, geben folgende Analysen ab:

1 ccm Zuckerlös. Reduktionszeit 8 Min. = 1,12 ccm $^n/_{200}$-Jodlös.

1 „ „ „ 8 „
Nach der Abkühlung — während der CO-Zuleitung — wurde 1 ccm H_2O hinzugesetzt . . . . . . = 1,02 „ $^n/_{200}$ „

Diese Analyse warnt dagegen, unbekannte Flüssigkeitsmengen nach der Reduktion zuzusetzen; so muß man stets dieselbe Menge Stärkelösung anwenden und, was wesentlicher ist, vermeiden, daß bei der Abkühlung unter dem Wasserhahn Wasser in den Schlauch hineingerät.

Es muß noch auf eine andere Fehlerquelle, vielleicht eine der wesentlichsten, aufmerksam gemacht werden. Es ergab sich nämlich fast stets als unmöglich, die ersten Analysen einer Serie zum Stimmen zu bringen, Sie werden zu hoch[1]).

Der Fehler rührt vom Gummischlauch her; wenn man ihn auch im voraus sehr gründlich reinigt, wird es fast nie gelingen, ihn vollständig von mehr oder minder lose sitzenden (oder löslichen) jodbindenden Stoffen zu befreien; diese werden in die ersten Analysen hinabgeraten, und diese werden deshalb, wie untenstehende Analysen zeigen, zu hoch ausfallen. Die Zuckermenge war in allen Analysen dieselbe.

1.	Analyse	1,70
2.	„	1,75
3.	„	1,62
4.	„	1,58
5.	„	1,57
6.	„	1,58.

Der Fehler kann 10 bis 20 $^0/_0$, ja noch mehr betragen.

Man hat natürlicherweise den Gummischlauch jeden Tag gründlich auszukochen, aber auch dann ist man, wie das oben angeführte Beispiel zeigt, nicht gegen diese Fehlerquelle gesichert. Man muß daher immer eine Analysenserie stets mit Bestimmungen an einer bekannten Zuckerlösung beginnen und erst mit den eigentlichen Analysen anfangen, wenn man richtige und konstante Zahlen erhält (als Kontrolle kann man auch die Konstanz des Blindwertes untersuchen).

Daß sich in dem Schlauch nicht geringe Mengen von jodbindenden Stoffen finden, sieht man aus dem Folgenden. Um die jodbindenden Stoffe im Gummischlauch zu sättigen und somit unschädlich zu machen, wurde der Schlauch, wenn er nicht gebraucht wurde, in einer schwachen ca. $^n/_{1000}$-Jodlösung

---

[1]) Dies wurde früher von Rydgaard beobachtet; seine Erklärung dieser Erscheinung trifft jedoch nicht zu.

aufbewahrt; längere Zeit hindurch war der Gummischlauch imstande, im Laufe von 12 Stunden 50 bis 100 ccm dieser Jodlösung zu binden.

Es muß daher empfohlen werden, den Gummischlauch, wenn er nicht gebraucht wird, in einer Jodlösung aufzubewahren.

Um die Analyse stets in derselben Weise auszuführen, beginne ich die Titrierung 2 Minuten nach Aufhören der Kochzeit und lasse die Titrierung selbst weitere 2 Minuten dauern.

Befolgt man die obengenannten Modifikationen, so ist Bangs Mikrozuckertitrierung eine äußerst genaue Methode, wie dies aus untenstehenden Analysen hervorgeht.

Zu untenstehenden Analysen wurde eine 0,160⁰/₀ige Glucose angewandt (ca. 2 g Glucose zu 100 ccm, nach einem Tage polarisiert und dann im Verhältnis 1:100 verdünnt).

1 ccm Zuckerlösung[1]).

Reduktionszeit = 7 Min. =	1,12 ccm $^{n}/_{200}$-Jodlösung	
	1,11	
	1,11	
	1,11	
	1,12	Mittlerer Fehler der
	1,12	Einzelbestimmung
	1,10	= 0,008 ccm
	1,12	= 0,7 %
	1,11 ccm	

1 ccm Jodlösung = 0,162 mg Glucose.

2 ccm Zuckerlösung.

Reduktionszeit = 7 Min. =	2,13 ccm $^{n}/_{200}$-Jodlösung	
	2,13	
	2,12	Mittlerer Fehler der
	2,12	Einzelbestimmung
	2,11	= 0,009 ccm
	2,11	= 0,4 %
	2,12 ccm	

1 ccm Jodlösung = 0,161 mg Glucose.

3 ccm Zuckerlösung.

[1]) Blindwert der Salzlösung 0,13 ccm $^{n}/_{200}$-Jodlösung.

Reduktionszeit = 7 Min. = 3,15 ccm $^{n}/_{200}$-Jodlösung
3,15
3,15 ccm

1 ccm Jodlösung = 0,159 mg Glucose.

mg Zucker	Jodverbrauch (korr. für Blindwert)	Wert von 1 ccm $^{n}/_{200}$-Jodlösung
0,480	3,02	0,159
0,320	1,99	0,161
0,223	1,39	0,160
0,160	0,98	0,163
0,112	0,69	0,163
0,045	0,28	0,161
0,0226	0,13	0,174 [1])

Man sieht daraus teils die große Genauigkeit, teils die Proportionalität zwischen Zuckermenge und verbrauchter Jodmenge.

Was die Blutzuckerbestimmungen selbst betrifft, wird die spezielle Behandlung natürlicherweise größere Fehler veranlassen.

Will man die Genauigkeit dieser Bestimmungen untersuchen, muß man die Bestimmungen mit Oxalatblut ausführen und nicht an einer kontinuierlichen Reihe von Proben aus einer Ohrenvene, da wenigstens beim Kaninchen sehr bedeutende Schwankungen des Blutzuckerprozentsatzes innerhalb ganz kurzer Zeiträume möglich sind; die Schwankungen in einer solchen Reihe geben daher kein Bild von der Genauigkeit der Methode ab.

Die Venenprobe. Kaninchen (Oxalatblut):

1. = 0,121 % Glucose
2. = 0,119
3. = 0,118
4. = 0,121
5. = 0,122
6. = 0,119
7. = 0,118
8. = 0,122

0,120 ± 0,0006 % Glucose.

Mittlerer Fehler der Einzelbestimmung = 0,0017 % Glucose = 1,4 % des Wertes.

[1]) Diese anscheinende Abweichung braucht natürlicherweise nicht von reeller Bedeutung zu sein; wenn statt 0,13 ccm Jod 0,14 gebraucht worden wäre, hätte man den normalen Wert 0,161 erhalten.

Der Fehler ist hier etwas größer als bei der Bestimmung reiner Zuckerlösungen, und es ist zudem eine bedeutend größere Sorgfalt vonnöten, um diese Genauigkeit zu erzielen; die wesentlichste Fehlerquelle ist sicherlich, wie Bang hervorhebt, eine verschiedene Verteilung von Plasma und Blutkörperchen.

Im Gegensatz zu Bang, der anführt, daß es nicht schwer fällt, sowohl Oxalat als Fluornatrium auf den kleinen Filtrierpapierstückchen zum Haften zu bringen, habe ich die Erfahrung gemacht, daß es nur selten gelingt, die Proteinstoffe des Oxalat- oder Fluornatriumblutes quantitativ auf dem Papier zum Verbleiben zu bringen; ein größerer oder geringerer Teil geht in die Salzlösung über; wenn man auch filtriert, wie dies für derartige Fälle von Bang empfohlen ist, wird eine derartige Analyse unrichtige (zu hohe) Resultate ergeben.

In vielen Fällen, wo Blut genug zur Verfügung steht, ziehe ich es vor, größere Mengen von Blut, in der Regel 1 ccm, abzumessen (oder abzuwägen), sie mit etwa 20 ccm Salzlösung zu fällen, das Filter mit 5×5 ccm Salzlösung auszuwaschen, 1 ccm dialysiertes Eisen (Rona) zuzusetzen und bis 50 ccm zu verdünnen, zu filtrieren und eine aliquote Menge, in der Regel 5 oder 10 ccm, zur Analyse abzumessen. Die analysierte Flüssigkeit ist dann absolut proteinstofffrei.

Zur Physiologie des Blutzuckers. II.
Untersuchungen über Lépines „Sucre virtuel".

Von

Rich. Ege.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 19. Dezember 1917.)

Es war lange eine strittige Frage, in welcher Form der Zucker sich im Blute findet. Die Dialysenversuche von Michaelis und Rona[1]) haben es jedoch im allerhöchsten Grade wahrscheinlich gemacht, daß die durch die gewöhnliche Methode im Blute gefundene Menge von Zucker tatsächlich als freie Glucose vorkommt.

Ob die Glucose sich aber in dem zirkulierenden Blut frei oder gebunden findet, wird für die meisten quantitativen Untersuchungen über den Blutzucker ohne Bedeutung sein, falls die ganze Glucosemenge durch die Behandlung befreit wird, die notwendigerweise einer gewöhnlichen Zuckerbestimmung vorausgehen muß. Ganz anders verhält es sich dagegen, wenn die durch die gewöhnlichen Methoden bestimmte Zuckermenge nur ein Teil, und zwar ein schwankender Teil, vom gesamten Zucker des Blutes ist.

Nach dieser Annahme enthält das Blut: freie Glucose + gebunde Glucose = Gesamtzucker.

Falls dies richtig ist und die freie Glucose gar einen stark schwankenden Teil vom Gesamtzucker des Blutes ausmacht, ist leicht einzusehen, daß eine Bestimmung des Blutzuckers, wie sie nach den gewöhnlichen Methoden stattfindet, einen großen Teil ihres Wertes einbüßt; was man bestimmt, ist nur

---

[1]) Michaelis und Rona, Diese Zeitschr. 14, 1908.

die freie Glucose; dasjenige, auf dessen Kenntnis es in fast allen Verhältnissen am meisten ankommt, ist die Gesamtzuckermenge, und über diese erhält man unter diesen Voraussetzungen keine Aufschlüsse.

Wir besitzen nun von Lépine und seinen Mitarbeitern eine sehr reiche Literatur, die auf einer großen Anzahl von Analysen aufgebaut ist und in der eine solche Auffassung geltend gemacht wird[1]. Im Blute findet sich teils freie Glucose, „Sucre immédiat“, teils gebundener Zucker, „Sucre virtuel“.

Unter virtuellem Zucker verstehen diese Forscher einen Stoff, der keine einfache reduzierende Zuckerart (Glucose) ist und sich daher nicht durch die gewöhnlichen Methoden bestimmen läßt, der sich aber durch verschiedenartige Beeinflussung in reduzierenden Zucker spalten läßt.

Läßt man eine Blutprobe stehen, wird die Zuckerkonzentration abnehmen; es findet nämlich eine enzymatische Spaltung der Glucose statt, die sogenannte Glucolyse. Wir stehen hier einem wiederholentlich beobachteten Prozesse gegenüber.

Im Jahre 1891 veröffentlichten Lépine und Barral[2] indessen einige Versuche, aus denen hervorging, daß der entgegengesetzte Prozeß auch stattfinden kann. Es ergab sich, daß die Zuckermenge der Blutprobe nach dem Stehenlassen zugenommen hatte.

Ließ man die Blutprobe bei Zimmertemperatur oder bei 37° stehen, so fand jedoch fast immer ein Zuckerschwund statt; ließ man aber das Blut bei 58° oder bei 0° stehen, ergab sich fast immer eine Zuckervermehrung.

Lépine erklärt diese Erscheinung in folgender Weise: In dem entleerten Blut verlaufen zwei entgegengesetzte Prozesse: 1. die Glycolyse, die einen Zuckerschwund herbeiführt; 2. eine Zuckerbildung, indem der virtuelle Zucker in freie Glucose übergeht. Bei gewöhnlicher Temperatur und bei 37° ist die Glycolyse normaliter der kräftigere von diesen Prozessen;

---

[1] Von Lépine und Bouluds zahlreichen Abhandlungen führe ich hier die wichtigsten an: Comptes rendus **134**, 1902, **137**, 1903, **143**, 1906, **145**, 1907, **147**, 1908, **149**, 1909, **156**, 1913, **157**, 1913. Compt. rend. de la Soc. Biol. **1913**, I. Arch. internat. de Physiol. **1914**, 14. Journ. de Physiol. **1909**, **1911**.

[2] Lépine und Barral, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. **1891**.

daher wird man nur den Zuckerschwund feststellen können. Könnte man nun Mittel ausfindig machen, durch die die Glucolyse sich hemmen läßt, während der die Zuckerbildung bewirkende Prozeß nicht — oder nur in geringem Grade — gehemmt wird, so müßte es möglich sein, als Hauptergebnis der beiden entgegengesetzten Prozesse eine Vermehrung der Zuckermenge zu erhalten.

Wird die Blutprobe bis auf 58° erwärmt, so kann die Glucolyse nicht stattfinden; dagegen hindert diese Temperatur nicht den Verlauf des eine Zuckerbildung bewirkenden Prozesses.

So fanden Lépine und Barral, Lépine und Boulud eine Vermehrung der Zuckermenge einer Blutprobe, nachdem das Blut kürzere oder längere Zeit ($^1/_4$ bis 1 Std.) bei 58° gestanden hatte. Die Vermehrung ist sozusagen immer größer als der Versuchsfehler und kann in vielen Fällen sehr beträchtlich sein, namentlich wenn das Versuchstier im voraus eine Reihe verschiedener Eingriffe, Betäubung, Blutentnahme, Injektion von Adrenalin, Phlorizin oder namentlich Glucose (2 g per Kilogramm) erlitten hat.

Die Vermehrung beträgt in den genannten Beispielen in der Regel zwischen 20 und 200%, aber derartige Vermehrungen „sont exceptionels“.

In einer Arbeit wie die vorliegende, die zuvörderst auf eine Nachprüfung von Lépines Versuchen abzielt, habe ich mich natürlicherweise besonders bemüht, die exzeptionellen Zunahmen hervorzurufen.

Falls die Analysen richtig sind, unterliegt es also keinem Zweifel, daß sich im Blute ein Stoff (sucre virtuel) finden muß, der selbst keine einfache Zuckerart ist — und sich daher nicht durch die gewöhnlichen Methoden nachweisen läßt —, der aber umgewandelt oder in einer solchen Weise gespalten werden kann, daß reduzierende Zuckerarten (Glucose) entstehen.

Dieser Spaltungsprozeß findet also in entleertem Blut statt; wenn in dem Organismus selbst eine entsprechende Umwandlung stattfindet, wird die Erscheinung von sehr großer Bedeutung sein.

Bestimmt man den Zuckerprozentsatz im rechten Herzen und in der Carotis gleichzeitig, sollte man ja gleich viel Zucker

vorfinden. Das Blut hat ja nur die Lunge passiert; es kann kaum eine Zuckerverbrennung noch eine Zuckerbildung von wesentlicher Bedeutung auf Kosten der Glycolyse stattgefunden haben[1]).

Lépine und Boulud haben darüber Untersuchungen angestellt[2])[3]), indem sie dem rechten Herzen und der Carotis gleichzeitig Proben entnahmen. Die Probe aus der Carotis wird als um so viel später als die Probe aus dem rechten Herzen bezeichnet, wie der Zeit eines Lungenkreislaufes entspricht. Um einige Zahlen anzuführen, zitiere ich folgenden Versuch (Hund, Phlorizin):

		1 Std. später
Blut aus dem r. Herzen	0,056 %	0,033 %
„ „ der Carotis	0,082 %	0,060 %

Durch diese Versuche sollte also bewiesen sein, daß der virtuelle Zucker sich im Blute findet und daß die Umwandlung von virtuellem Zucker in freie Glucose im Organismus statthat.

Sollte dies wirklich der Fall sein, so ist es klar, daß wir einem Prozesse gegenüberstehen, der von der größten Bedeutung ist für die Physiologie des Blutzuckers, und ist man darüber nicht im klaren, wird man es schnell werden, wenn man die Arbeiten von Lépine und Boulud studiert, indem hier wiederholentlich gezeigt wird, daß ein wirkliches Verständnis nicht durch Untersuchungen über die freie Glucose erzielt werden kann, sondern erst durch Untersuchungen, die den virtuellen Zucker berücksichtigen.

---

[1]) Lépine und Boulud, Sur le sucre virtuel du sang. Compt. rend. **137**, 686, 1903.

[2]) Lépine und Boulud erörtern ferner die Frage, ob die Wasserverdampfung von der Lunge eine nachweisbare Änderung der Blutzuckerkonzentration bewirken kann. Daß dies, wie diese beiden Forscher auch schließen, nicht der Fall sein kann, ist leicht aus folgender Berechnung zu ersehen:

$$\frac{\text{Wasserverdampfung pro 24 Std.}}{\text{Zirkulationsvolumen pro 24 Std.}} = \frac{1 \text{ Liter}}{5 \times 60 \times 24 \text{ Liter}} = \frac{1}{7200}.$$

Beträgt die Zuckerkonzentration im rechten Herzen 0,100, so wird sie infolge der Wasserverdampfung in der Lunge auf etwa 0,1001 gestiegen sein, was natürlicherweise durchaus unmeßbar ist.

[3]) Dieselben, Sur la production de sucre dans le sang pendant le passage du dernier à travers le poumon. Compt. rend. **137**, 1903, 475.

Um ein bestimmtes Beispiel anzuführen, nenne ich den Zuckerverbrauch in den Muskeln.

Bestimmt man die Zuckermenge im Arterien- und im Venenblut, wird man nach Lépine und Boulud[1]) zu dem anscheinend sinnlosen Resultat kommen, daß sich im Venenblut mehr Zucker findet als im Arterienblut. In der Arterie wurde gefunden 0,80 ‰, in der Vene 0,86 ‰.

Dieses Resultat ist aber nur sinnlos, solange man sich mit einer Bestimmung der freien Zuckermenge begnügt; bestimmt man irgendwie auch den virtuellen Zucker, so daß man wirklich eine Bestimmung der Gesamtzuckermenge des Blutes erhält, so wird man finden, daß die Gesamtzuckerkonzentration geringer ist in den Venen als in den Arterien, wie dies auch zu erwarten war (in der Arterie 0,90 ‰, in der Vene 0,86 ‰).

In den Muskeln finden also zwei Vorgänge statt, teils ein Verbrauch von Glucose, teils eine Spaltung des virtuellen Zuckers, so daß sich Glucose bildet.

Lépine war somit darüber im klaren, wie wesentlich es sein würde, die Menge des virtuellen Zuckers zu bestimmen, so daß man wirklich die Gesamtzuckerkonzentration des Blutes kennen lernte.

Lépine bestimmte den virtuellen Zucker in folgender Weise: Das ausgewaschene, zuckerfreie Blutgerinnsel wird mit Säuren, Salzsäure, Zitronensäure oder namentlich Flußsäure mehrere Stunden hindurch, 12 bis 24 bis 36, gekocht. Durch diese Behandlung wird der virtuelle Zucker in Glucose gespalten, und die Menge läßt sich also in gewöhnlicher Weise im Filtrate bestimmen. Die in der Weise bestimmte Zuckermenge übertraf oft die Menge von primärem Zucker (sucre immédiat). Daß Proteinstoffe bei langem Kochen mit Säure reduzierende Kohlenhydratgruppen abspalten können, ist eine bekannte Sache, aber dadurch ist keineswegs bewiesen, daß ein solcher Prozeß in dem zirkulierenden Blute stattfindet, noch daß die reduzierenden Substanzen, die durch die Säurespaltung entstehen, mit demjenigen irgend etwas zu schaffen haben, was durch enzymatische Prozesse in dem Organismus und außerhalb desselben gebildet werden soll.

---

[1]) Lépine und Boulud, Sur le sucre virtuel du sang. Compt. rend. **137**, 686, 1903.

Lépine benutzte ursprünglich den Ausdruck „sucre virtuel", sowohl wo die Rede war von einer Zuckerbildung infolge eines langwierigen Kochens mit Säure als von einer Zuckerbildung, die sich bei natürlichen Verhältnissen nachweisen ließ, sei es in dem zirkulierenden Blut oder in dem entleerten Blut, wahrscheinlich infolge eines enzymatischen Prozesses. Späterhin hat er aber zwischen zwei verschiedenen Begriffen gesondert; unter „virtuellem Zucker" versteht er nun einen Stoff, der sich im Blute findet und der durch eine enzymatische Spaltung in reduzierenden Zucker übergeht[1]).

In gegenwärtigem Aufsatz beschäftige ich mich ausschließlich mit virtuellem Zucker in diesem Sinne.

Sonderbarerweise sind die Untersuchungen von Lépine und seinen Mitarbeitern über den virtuellen Zucker so gut wie gar nicht von anderen Forschern nachgeprüft worden.

Bierry und Lucie Fandard[2]) bestreiten die Richtigkeit von Lépines Versuchen; sie finden nämlich bei Stehenlassen mit Darmsaft aus der Helix pomatia, trotzdem dieses Präparat ein sehr kräftiges glucosidspaltendes Vermögen besitzt, keine Vermehrung der Zuckermenge des Blutes.

Macleod[3]) findet keine Vermehrung des Zuckergehaltes des Blutes nach Stehenlassen bei Zimmertemperatur, was jedoch natürlicherweise, wie Lépine[4]) selbst behauptet, den Wert seiner Untersuchungen keineswegs beeinträchtigt: Eine Vermehrung bei einfachem Stehenlassen wurde nur in 3 von 1000 Versuchen beobachtet; erst wenn die Glykolyse durch Erwärmung bis auf 58° verhindert worden ist, wird in der Regel eine Vermehrung eintreten.

Ich glaube daher, daß es von einigem Interesse sein wird, Lépine und Bouluds Versuche nach möglichst derselben Methodik zu wiederholen.

Die erste Frage ist nun:

---

[1]) Lépine und Boulud, Le sucre virtuel du sang. Arch. internat. de Physiol. 1914.

[2]) Compt. rend. de la Soc. Biol. 1912, II. und Compt. rend. 158, 1914. Zu bemerken ist jedoch, daß in dem einzigen angeführten Versuche eine Vermehrung um 4% vorliegt.

[3]) Journ. of biological Chemistry 15, 1913.

[4]) Journ. of biological Chemistry 16, 1913/14.

I. Wird der Zuckerprozentsatz des Blutes durch Stehenlassen gesteigert?

a) Einfaches Stehenlassen bei 58°.

Das Blut, etwa 5 ccm, strömte aus der Kanüle in eine Schüssel hinab; aus derselben wurden zwei Proben von 1,00 ccm abpipettiert, was leicht zu bewerkstelligen ist, bevor das Blut gerinnt[1]). Da ich meist bei den Versuchen einen Gehilfen hatte, war es auch möglich, vier Proben abzupipettieren.

Die zwei Proben liefen in einen Kolben hinab mit 5 ccm H_2O, das auf 58° erwärmt und werden dann 1 Std. lang bei 58° hingestellt. Die beiden anderen Proben liefen in einen Kolben hinab mit 20 ccm Kaliumchloridlösung (Bang) + 5 ccm H_2O. Die Proteinstoffe werden durch Erwärmen sofort gefällt.

Bei diesen Untersuchungen ist es sowohl aus theoretischen als aus praktischen Gründen unmöglich, die gewöhnliche Bangsche Probeentnahme mit Aufsaugen auf Filterpapier anzuwenden. Es ist nämlich keineswegs gegeben, daß ein enzymatischer Prozeß stattfinden kann, wenn das Blut in das Filtrierpapier hinaufgesogen wird und 1 Std. lang bei 58° in einigermaßen trockener Luft[2]) stehen bleibt. Der größte Teil des Wassers muß dann verdampfen, und die enzymatischen Prozesse werden gehemmt. Ein negatives Resultat würde somit recht wertlos sein. Aus praktischen (analytischen) Gründen wird eine Abmessung der Proben mit darauffolgender Fällung erst mit der Salzlösung, dann mit Ferrum oxydatum dialysatum weit vorzuziehen sein, weil es sehr schwer, wo nicht unmöglich ist, auf dem Filtrierpapier ein quantitatives Gerinnen der Probe zu erzielen, die 1 Std. lang bei 58° stehen soll.

Die Behandlung der beiden gleichzeitig entnommenen Proben ist also die folgende:

1. 1 ccm wird abgemessen, in 5 ccm H_2O hinab bei 58°, 1 Std. bei 58°, Zusatz von 20 ccm Salzlösung. Fällung der Proteinstoffe durch Erwärmen, Auswaschen des Filtrates mit etwa 5 × 5 ccm Salzlösung. Zusatz von 1 ccm Ferrum oxydatum,

[1]) Es wurde kein Kaliumoxalat oder Natriumfluorid zugesetzt, da diese Stoffe annehmbar die etwaige Spaltung des virtuellen Zuckers hemmen oder hindern.

[2]) Der späteren Analyse wegen war es unmöglich, das Filtrierpapier in einer feuchten Kammer anzubringen.

Tabelle I.

	A % Glucose 1 St. bei 58°		B % Glucose Sofort titriert		A—B Abs.	A—B %
Kaninchen Urethan Arterienblut	0,250 0,246	0,248	0,243 0,243	0,243	+ 0,005	+ 2,0
(1)	0,267 0,267	0,267	0,254 0,257	0,255	+ 0,012	+ 4,5
do. do.	0,253 0,255	0,254	0,249 0,249	0,249	+ 0,006	+ 2,4
(2)	0,242 0,239	0,241	0,236 0,239	0,238	+ 0,003	+ 1,2
do. do.	0,305 0,310	0,308	0,305 0,309	0,307	+ 0,001	+ 0,3
(3)	0,329 0,329	0,329	0,326 0,332	0,329	± 0,000	± 0,0
	0,344 0,346	0,345	0,348 0,346	0,347	— 0,002	— 0,6
	0,348 0,352	0,350	0,353 0,355	0,354	— 0,004	— 1,1
	0,390 0,394	0,392	0,403 0,400	0,402	— 0,010	— 2,6
	0,407 0,413	0,410		0,405	+ 0,005	+ 1,2
		0,500	0,510 0,514	0,512	— 0,012	— 2,4
Kaninchen	0,185 0,185	0,185	0,178 0,180	0,179	+ 0,006	+ 3,2
Urethan. 1 g Phlorizin	0,178 0,172	0,175	0,168 0,175	0,172	+ 0,003	+ 1,7
Arterienblut		0,198		0,198	± 0,000	± 0,0
(4)		0,197		0,202	— 0,005	— 2,5
		0,228		0,227	+ 0,001	+ 0,4
	0,244 0,247	0,246	0,244 0,247	0,246	± 0,000	± 0,0
		0,245		0,247	— 0,002	— 0,8
Kaninchen Urethan	0,244 0,246	0,245	0,240 0,237	0,239	+ 0,006	+ 2,5
Arterienblut (5)	0,367 0,363	0,365	0,364 0,361	0,363	+ 0,002	+ 0,5

M = + 0,50 %
Σ = ± 0,45 %

Verdünnung bis zu 50 ccm, Filtrieren. Von der durchaus proteinstofffreien Flüssigkeit werden in der Regel 10 ccm zur Analyse

(= 0,2 ccm Blut) abgemessen. 5 ccm H_2O + 2 ccm Cu-Lösung. Titrierung mit $^n/_{200}$-Jodlösungen.

2. Wird ganz in derselben Weise behandelt; jedoch wird die abgemessene Blutmenge direkt in die 20 ccm Salzlösung (+ 5 ccm H_2O) entleert. Die Proteinstoffe werden gleichfalls sofort gefällt.

In dieser Probe werden also alle enzymatischen Prozesse sofort zum Stillstand gebracht; die Zuckermenge, die sich somit in diesen Proben findet, muß also Lépines „sucre immédiat" entsprechen; die zweite Probe steht 1 Std. lang bei 58°; in ihr muß sich also teils „sucre immédiat", teils eine größere oder kleinere Menge finden, die durch Spaltung aus dem virtuellen Zucker gebildet ist.

In der vorstehenden Tabelle sind die Versuchsresultate wiedergegeben.

Die Versuche weisen durchgehends eine sehr genaue Übereinstimmung zwischen den A- und B-Proben auf; nach dem Durchschnitt von allen 20 Bestimmungen hat die Zuckermenge beim Stehen bei 58° um $^1/_2$ °/$_0$ zugenommen. Da der mittlere Fehler des Durchschnittes (Σ) 0,45 °/$_0$ beträgt, bedeutet dies, daß keine nachweisbare Zuckerbildung stattgefunden hat.

b) Stehenlassen bei 58° nach Zusatz von gewissen Enzymen.

Lépine und Boulud stellen sich den virtuellen Zucker als ein Glucosid vor; hiermit übereinstimmend finden sie eine vermehrte Zuckerbildung, wenn sie statt eines einfachen Stehenlassens bei 58° die Probe nach Zusatz eines glucosidspaltenden Enzyms, z. B. Emulsin, stehen lassen; dieselbe Wirkung hat Invertin; sie glaubten gleichfalls nachzuweisen, daß sich im Organismus ein Enzym findet, das den virtuellen Zucker in gewöhnlichen Zucker spalte[1]). Dieses Enzym fand sich vorzugsweise in der Gefäßwand, aus der es sich mittels Wasser extrahieren ließ. Setzten sie daher dem Extrakt oder, noch besser, einem Stück der Gefäßwand das Blut zu und ließen es bei 58° stehen, fanden sie eine größere Zuckerbildung als bei einfachem Stehenlassen bei 58°.

Auch diese Versuche habe ich wiederholt, ohne daß ich

---

[1]) Journ. de Physiol. **1911**. Compt. rend. **156** u. **157**, 1913.

die Behauptungen von Lépine und Boulud in irgendwelcher Beziehung bestätigen kann.

Als Enzym wählte ich Emulsin, das nach Herrisey[1]) hergestellt war. Die Aktivität des Präparates wurde an dessen Wirkung auf Salicin geprüft.

1 ccm 1 % iger Salicinlösung gebraucht . . . 0,50 ccm $^n/_{200}$-Jod
1 „ 1 „ „
+ 1 ccm Emulsin 1 Std. bei 58° gebraucht 4,00 „ „

Das Emulsinpräparat enthielt sozusagen keine reduzierende Substanz, auch nicht nach eintägigem Stehenlassen.

0,2 ccm Emulsin 0,27 ccm $^n/_{200}$-Jod
— 0,17 „ „
0,10 „ „

Das Emulsinpräparat ist aktiv in wässeriger Lösung sogar nach eintägigem Stehenlassen bei gewöhnlicher Temperatur.

5 ccm Salicinlösung (ca. 0,1 %) sofort . . . . 0,50 ccm Jod
nach einstündigem Stehenlassen mit 1 ccm Emulsin . . . . 2,50 „ „

Außerdem ist es aktiv nach Zusatz von Oxalat.

10 ccm Salicinlösung (ca. 0, 1 %) + 1 ccm Emulsin, einstündiges Stehenlassen bei 58° . . = 3,70 ccm Jod
10 „ Salicinlösung (ca. 0,1 %) + 0,2 ccm Kaliumoxalat . . . . . . = 2,20 „ „
10 „ „ (ca. 0,1 %) + 0,8 ccm Kaliumoxalat . . . . . . = 2,08 „ „

Das benutzte Präparat war also wirkungsfähig unter den Bedingungen, unter denen es benutzt wurde; nichtsdestoweniger hatte es keinen Einfluß auf den Zuckergehalt des Blutes, wie dies aus untenstehender Tabelle hervorgeht.

Die Probe A wurde 1 Std. bei 58° mit 1 ccm Emulsin stehen gelassen; im übrigen wie oben.

Zur B-Probe wurde der Kontrolle halber auch 1 ccm Emulsin gesetzt; der Zusatz fand aber während des Kochens statt.

---

[1]) Rech. sur l'émulsine. Thèse, Paris 1899.

Tabelle II[1]).

	A 1 Std. bei 58° mit Emulsin	B Sofort titriert	A—B	A—B %
Kaninchen 4 g Urethan; 1 g Glucose per Kilogramm intravenös. Arterienblut. (5)	0,356 0,379	0,357 0,384	− 0,001 − 0,005	− 0,3 − 1,3
Kaninchen. do. do. (6)	0,248 0,240 0,316 0,303 0,341[2]) 0,355	0,242 0,239 0,320 0,311 0,342 0,352	+ 0,006 + 0,001 − 0,004 − 0,008 − 0,001 + 0,003	+ 2,4 + 0,4 − 2,5 − 2,6 − 0,3 + 0,9
Kaninchen. Urethan. 2 g Glucose per Kilogr. Venenblut (r. Herz). (7)	0,222 0,221	0,223 0,222	− 0,001 − 0,001	− 0,5 − 0,5
Kaninchen, Venenblut. (8)	0,230 0,228	0,232 0,228	− 0,002 ± 0,000	− 0,9 ± 0,0
Kaninchen. Urethan. Arterienblut. (9)	0,168 0,172 0,172 0,168	0,172 0,168 0,168 0,171	− 0,004 + 0,004 + 0,004 − 0,003	− 2,4 + 2,4 + 2,4 − 1,8
	Zusatz von einem Stück der Gefäßwand	Zusatz von einem Stück der Gefäßwand, inaktiviert		
	0,122	0,122	± 0,000	± 0,0

M = − 0,008; M = − 0,2 % ± 0,41

Σ = ± 0,00098; Σ = ± 0,41 %

Auch in diesem Falle hat keine Zuckerbildung stattgefunden.

Von Lépines Versuchen, die den virtuellen Zucker supponieren, bleiben seine Analysen aus den verschiedenen Gefäßgebieten übrig. Zeigt es sich, daß die Carotis mehr Zucker enthält als das rechte Herz, muß man trotz allem annehmen, daß sich im Blute ein Stoff findet, der selbst kein Zucker ist, der aber die Muttersubstanz der freien Glucose des Blutes vertritt.

Die Versuche mit dem Muskelarterien- und Venenblut, die nach Lépine und Boulud für die gleiche Auffassung sprechen

[1]) Es sind in dieser wie auch in der vorigen Tabelle beinahe überall Doppelanalysen ausgeführt.

[2]) In diesem und dem nächsten Versuch wurde 0,2 % Kaliumoxalatblut verwendet.

sollen, sind natürlicherweise bei weitem nicht so eindeutig; ein höherer Zuckerprozentsatz im Venenblut als im Arterienblut kann in Muskelglykogen seine Erklärung finden[1]. Die Zuckerbildung in der Lunge auf Kosten des virtuellen Zuckers ist in untenstehender Tabelle widerlegt.

Tabelle III.

	A. Carotis	B. r. Herz	A—B	A—B %
Hund. Op. weg. Parathyreoidea, Äther, Carotiskanüle, Katheter in Vena jugularis in das r. Herz hinab	0,187	0,184	+ 0,003	+ 1,6
Hund, 30 kg. 3 g Phlorizin, Äther	0,126	0,125	+ 0,001	+ 0,8
Hund, Äther	0,190	0,190	± 0,000	± 0,0
	0,179	0,178	+ 0,001	+ 0,6

Die Zuckerbildung in der Lunge = + 0,0012 ± 0,0096 oder ausgedrückt in Prozenten des Wertes = + 0,96 ± 0,55 %.

Zusammenfassung.

Eine Nachprüfung der Versuche von Lépine und seinen Mitarbeitern über den „sucre virtuel“ ergab ein durchaus negatives Resultat.

Für die Annahme, daß sich im Blute ein Stoff finden sollte, der durch enzymatische Spaltung in reduzierenden Zucker umgewandelt wird, ergab sich kein Anhaltspunkt.

Dem Chef des Laboratoriums, Herrn Professor Dr. med. Henriques, der mich bei der Ausführung dieser Arbeit fortwährend durch Rat und Tat unterstützt hat, spreche ich hiermit meinen innigsten Dank aus.

[1]) Versuche hierüber werden später publiziert werden.

Gesamtphosphorsäure und Lecithinphosphorsäuregehalt verschiedener Erbsensorten.

Von

P. Halász.

(Aus dem pharmakognostischen Institut der Universität zu Koloszvár.)

(Eingegangen am 19. Dezbr. 1917.)

Um die Schwankungen der Lecithinmengen, ferner das Verhältnis zwischen Lecithinphosphorsäure und Gesamtphosphorsäure bei den verschiedenen Varietäten einer Leguminosenspezies festzustellen, habe ich eine Anzahl Erbsensorten auf Gesamtphosphorsäure und Lecithinphosphorsäure untersucht.

Die reifen Erbsensamen wurden ohne Rückstand in feinstes Pulver zerstoßen. Die Feuchtigkeit wurde im Trockenschrank und über Schwefelsäure bestimmt. Die mitgeteilten analytischen Ergebnisse beziehen sich daher auf Trockensubstanz. Die Bestimmung der Gesamtphosphorsäure geschah mit der Neumannschen Veraschungsmethode[1]). Das Extrahieren des Lecithins wurde nach Schulzes Verfahren durchgeführt[2]), d. h. nach vorheriger Extraktion mit Äther wurde die ca. 10 g betragende Erbsenpulvermenge zweimal, durch 100 ccm absoluten Alkohol mit Benutzung eines Rückflußkühlers extrahiert. Das Pulver wurde selbstverständlich ebenfalls mit abs. Alkohol nachgewaschen. Nach Vereinigung der Auszüge und Abdestillieren der Flüssigkeit wurde der Phosphorgehalt mit dem Neumannschen Verfahren bestimmt und die Lecithinmenge als Distearyllecithin berechnet.

Schulze und Frankfurt[3]) fanden in der reifen Erbse 1,23%, in der unreifen 0,50% Lecithin.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 129 und **43**, 35.

[2]) Landw. Versuchsst. **43**, 307 und Zeitschr. f. physiol. Chem. **13**, 365.

[3]) Landw. Versuchsst. **43**, 307.

Töpler[1]) fand im fetten Öle der Erbse (durch Äther extrahiert) 1,17 % Phosphor, d. h. 30,46 % Lecithin. Jacobsen[2]) fand dagegen im Öle (durch Alkohol extrahiert) 1,93 % Phosphor oder 50,25 % Lecithin. Wenn wir nach den Königschen Tabellen den Ölgehalt der Erbse in 1,88 % annehmen, so hat Töpler in der Erbse 0,57 %, Jacobsen 0,94 % Lecithin gefunden.

Meine Untersuchungen gaben folgende Resultate:

Erbsensorte mit den in der Gärtnerei üblichen Namen bezeichnet	Gesamt-phosphor-säure (P_2O_5)		Lecithin-phosphor-säure (P_2O_5)		Distearyl-lecithin berechnet		Verhältnis zwischen Gesamt- u. Lecithin-phosphor-säure
	in % auf Trockensubstanz						
Victoriaerbse I	0,614	0,598	0,104	0,0998	1,173	1,132	6,0
„ II	0,581		0,0957		1,091		
Frühlingserbse (Futtererbse I)	0,680	0,702	0,1198	0,1131	1,361	1,285	6,21
„ „ II)	0,734		0,1063		1,209		
Markerbse „Telefon"	1,365	1,3615	0,191	0,1925	2,17	2,195	7,09
„ „	1,368		0,194		2,22		
Markerbse „Amerik. Wunder"	1,482	1,4805	0,203	0,206	2,31	2,345	7,13
„ „ „	1,479		0,209		2,38		
Zuckererbse „Grauer Riese" .	0,787	0,7835	0,1247	0,1244	1,416	1,413	6,29
„ „ „ .	0,780		0,1242		1,411		

Aus der vorstehenden Tabelle ist zu ersehen, daß der Lecithingehalt mancher Erbsenvarietäten sogar auch 2,34 % erreichen kann. Die größten Lecithinmengen enthaltenden Markerbsen sind auch in reifem Zustande grün, d. h. chlorophyllhaltig. Dieselben Erbsensorten sind relativ arm an Stärkekörnern, was durch eine mikroskopische Untersuchung leicht festzustellen ist. Die gelben und zugleich relativ weniger Lecithin enthaltenden Sorten haben mehr Stärke im Zellinhalt. Die Kotyledonzellen der Viktoriaerbse sind mit Stärkekörnern gefüllt, und dieselbe Sorte ist die lecithinärmste.

Die Gesamtphosphorsäure steht in auffallend strengem Verhältnis zur Lecithinphosphorsäure. Die Menge der Gesamtphosphorsäure ist 6- bis 7mal mehr als die Menge der Lecithinphosphorsäure, und zwar 7mal mehr bei den Chlorophyll

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **15**, 278.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **13**, 37.

enthaltenden Samen und 6mal bei den stärkereichen. Es ist daher statthaft, aus der Gesamtphosphorsäure der Erbse auf den Lecithingehalt zu schließen.

Es wäre nicht ohne jedes Interesse, ähnliche Untersuchungen auch an anderen Lecithin enthaltenden Samen vorzunehmen.

Analytisches.

I. Bestimmung der Gesamtphosphorsäure.

Erbsensorte	Gewogene Mengen in g	Feuchtigkeit in g	P_2O_5 in g	Verbrauchte n/2-Lauge in ccm
Viktoriaerbse	6,6876	0,6969	0,0348	27,5
„	1,2903	—	0,0071	5,6
Frühlingserbse	2,8060	0,2696	0,0186	14,7
„	3,0140	0,2842	0,0185	14,6
Markerbse „Amerikas Wunder“	3,7155	0,3552	0,0497	39,2
„ „ „	3,9080	0,3736	0,0524	41,33
Markerbse „Telefon“	2,2549	0,2042	0,0280	22,1
„ „	1,8485	0,1674	0,0228	18,0
Zuckererbse „Grauer Riese“ .	3,5208	0,3081	0,0251	19,6
„ „ „ .	3,1636	0,2948	0,0226	17,8

II. Bestimmung der Lecithinphosphorsäure.

Erbsensorte	Gewogene Mengen in g	Feuchtigkeit in g	P_2O_5 im Extrakte in g	Verbrauchte n/2-Lauge in ccm
Viktoriaerbse	12,7646	1,1402	0,0116	8,8
„	9,4858	0,8473	0,0090	7,1
Frühlingserbse	9,6992	0,9146	0,0105	8,3
„	8,2953	0,7822	0,0080	6,3
Markerbse „Amerikas Wunder“	7,6886	0,7350	0,0146	11,5
„ „ „	9,9872	0,9548	0,0183	14,5
Markerbse „Telefon“	7,8642	0,7123	0,0137	10,8
„ „	6,7844	0,6146	0,0121	9,5
Zuckererbse „Grauer Riese“ .	10,0406	0,9358	0,0113	8,95
„ „ „ .	10,2601	0,9562	0,0116	9,1

Über den Einfluß der Milchsäure auf die Milchsäuregärung.

Von

W. van Dam.

(Aus der Chemischen Abteilung der Reichslandw. Versuchsstation Hoorn, Holland.)

(Eingegangen am 26. Dezember 1917.)

Mit 1 Figur im Text.

Wenn bei der Milchsäuregärung eine gewisse Menge Säure gebildet ist, werden die Bakterien bekanntlich in ihrer Wirkung gehemmt, und der Prozeß kommt schließlich zum Stillstand. Für das Studium der biologischen Eigenschaften der Milchsäurebakterien ist die Frage nicht ohne Wichtigkeit, ob es sich hier handelt um die schädliche Wirkung entweder der gebildeten Wasserstoffionen, oder der nicht dissoziierten Molekeln der Milchsäure; haben doch die Lactationen keine giftigen Eigenschaften, was aus der allgemein bekannten Tatsache hervorgeht, daß die Gärung durch Zugabe milchsäurebindender Substanzen gefördert wird. Die unten mitgeteilten Versuche bilden einen Beitrag zur Beantwortung der gestellten Frage. Es wurde ausschließlich mit gewöhnlichen, kokenförmigen Milchsäurebakterien operiert, wie sie bei der Holländer Käsefabrikation verwendet werden.

Impft man sterilisierte Milch und deren Molke mit einer Reinkultur solcher Bakterien, und bestimmt man, nachdem während einiger Tage oder Wochen bei 22° gebrütet wurde, die Wasserstoffionenkonzentration in beiden Kulturen, so findet man nahezu die gleiche Zahl, wie aus folgender Tabelle I hervorgeht.

Tabelle I.

		C_H	ccm $^n/_{10}$-Lauge pro 100 ccm
I.	Serum	$5,15 \times 10^{-5}$	66,1
	Molke	$6,11 \times$ „	40,2
II.	Serum	$6,11 \times$ „	72,0
	Molke	$6,53 \times$ „	29,5
III.	Serum	$8,07 \times$ „	67,0
	Molke	$9,1 \times$ „	38,0
IV.	Serum	$7,68 \times$ „	67,6
	Molke	$8,99 \times$ „	37,2
V.	Serum	$6,59 \times$ „	65,2
	Molke	$6,98 \times$ „	35,0
VI.	Serum	$7,0 \times$ „	68,8
	Molke	$5,6 \times$ „	36,8
VII.	Serum	$7,08 \times$ „	70,0
	Molke	$5,5 \times$ „	37,2
VIII.	Serum	$8,47 \times$ „	71,6
	Molke	$9,04 \times$ „	43,6
IX.	Serum	$8,06 \times$ „	71,2
	Molke	$6,14 \times$ „	32,4
X.	Serum	$7,68 \times$ „	67,2
	Molke	$8,06 \times$ „	36,4
XI.	Serum	$8,02 \times$ „	70,0
	Molke	$10,3 \times$ „	41,6

Im dritten Stabe sind die potentiellen Säuregrade angegeben, die bekanntlich für das Serum bedeutend höher gefunden werden wegen der Anwesenheit einer größeren Phosphatmenge. Der Umstand, daß die C_H-Werte für das Serum und die Molke einander nahezu gleich sind, legt die Vermutung nahe, daß schließlich die Wasserstoffionen der weiteren Gärung ein Hindernis stellen. Um dies zu prüfen, ging ich von folgendem Gedankengange aus. Von den Lactationen wird offenbar der Prozeß nicht gehemmt, sie drängen aber die Dissoziation der sich bildenden Milchsäure zurück. Je mehr Lactat-Ionen sich also von vornherein in dem Kulturmedium befinden, desto mehr Milchsäure muß gebildet werden, damit die für die weitere Bakterienwirkung fatale Konzentration der H-Ionen erreicht wird. Bei Zusatz von ein wenig Natriumlactat zur Kulturflüssigkeit könnte man also nach Beendigung der

Gärung einen höheren potentiellen Säuregrad erwarten als in dem Medium ohne Lactatzugabe.

Die Versuche wurden wie folgt ausgeführt. Gleiche Volumina sterilisierter Molke wurden mit steigenden Mengen einer neutralen Natriumlactatlösung versetzt und mit Wasser wieder auf Volumgleichheit gebracht. Den so erhaltenen Flüssigkeiten wurde ein Tropfen der Reinkultur zugesetzt, um nachher die Kölbchen während wenigstens acht Tagen, aber meistens bedeutend länger, bei 22° zu brüten. Es wurde dann die Zunahme des potentiellen Säuregrades bestimmt, und auch die Werte für C_H. Tabelle II zeigt das Resultat eines solchen Versuches.

Tabelle II.

ccm norm. Na-Lactat zu 90 ccm Molke	Pot. Säuregrad vor dem Brüten	Pot. Säuregrad nach dem Brüten	C_H nach dem Brüten
10	8,9 n/10-Lauge	30,0 n/10-Lauge	1,78 × 10^{-5} n.
8	8,9 "	31,2 "	2,22 × " "
6	8,9 "	32,4 "	2,76 × " "
4	8,9 "	33,2 "	3,65 × " "
2	8,9 "	34,4 "	5,29 × " "
0	8,9 "	37,2 "	8,99 × " "

Wider die oben ausgesprochene Erwartung zeigt diese Tabelle, daß weniger Säure gebildet wurde, und in Übereinstimmung damit die Endkonzentration der Wasserstoffionen niedriger ausfiel, je nachdem mehr Natriumlactat zugesetzt war. Der Versuch wurde einige Male wiederholt (siehe unten) mit immer demselben Resultate. Ich habe daraus den Schluß gezogen, daß es nicht wahrscheinlich ist, daß bei meinen Versuchen die H-Ionen die Bakterienwirkung aufhoben.

Als ich statt Natriumlactat eine Kochsalzlösung in äqui-

Tabelle III.

ccm. norm. NaCl zu 90 ccm Molke	Pot. Säuregrad vor dem Brüten	Pot. Säuregrad nach dem Brüten	C_H nach dem Brüten
8	7,0 n/10-Lauge	43,5	10,5 × 10^{-5} n.
6	7,0 "	43,6	9,86 × " "
4	7,0 "	43,6	9,86 × " "
2	7,0 "	43,7	10,3 × " "
0	7,0 "	43,6	9,96 × " "

valenten Konzentrationen der Molke hinzugab, war schließlich die Wasserstoffionenkonzentration und die Säurebildung in den verschiedenen Kölbchen die gleiche, wie aus dem in Tabelle III gegebenen Beispiel hervorgeht.

Nach diesen Resultaten war es angebracht, zu untersuchen, ob in den Kölbchen, die unter Zugabe von Natriumlactat gebrütet waren, die Konzentration der nicht dissoziierten Molekeln vielleicht konstant war. Die Tatsache, daß desto weniger Milchsäure gebildet wurde, je nachdem mit mehr Lactat versetzt war, durch das die Ionisation der Säure zurückgedrängt wird, machte die Richtigkeit dieser Vermutung wahrscheinlich. Die Zahlen der Tabelle II ermöglichen die Berechnung der Konzentration der Milchsäuremolekeln in den Flüssigkeiten. Nach dem Massenwirkungsgesetz können wir nämlich schreiben:

$$k = \frac{C_H \times C_M}{C_{HM}}.$$

In dieser Gleichung ist k = die Dissoziationskonstante der Milchsäure, während C_H, C_M und C_{HM} vorstellen: die Konzentration der H-Ionen, Lactationen und der undissoziierten Molekeln dieser Säure.

Die Konstante k ist bekannt[1]), C_H wurde gemessen. Wäre auch C_M bekannt, so könnte C_{HM} berechnet werden. Setzen wir einen Augenblick voraus, daß die Gesamtmenge der in den Kölbchen sich befindenden milchsauren Salze völlig in Ionen gespalten ist, dann kann man schreiben:

$$C_M = \text{Totalsumme von Lactat und Milchsäure} - C_{HM}.$$

Diese Totalsumme ist zusammengesetzt aus der Konzentration des zugesetzten Natriumlactats und der während der Gärung gebildeten Milchsäure, die durch Titration gefunden wird (Differenz von Stab 3 und 2 in Tabelle II). Die Voraussetzung der völligen Spaltung der Lactate trifft aber nicht zu. In den Gärungskölbchen überwiegt das Natriumlactat; man macht also keinen bedeutenden Fehler, wenn man die

---

[1]) Nach Ostwald ist $k = 138 \times 10^{-6}$. Nach meinen später ausgeführten Messungen (Centralbl. f. Bakteriologie II Abt., 32, 7, 1911) ist diese Zahl zu niedrig. Ich fand nach zwei Methoden (Leitfähigkeit und Bredigscher Diazoessigesterzersetzung) in guter Übereinstimmung 147×10^{-6}. Bei obenstehenden Berechnungen wurde letztere Zahl angenommen.

von Ostwald[1]) bestimmte Dissoziation dieses Salzes in die Berechnung einführt[2]). Nennt man diese α, so kann man folgern:

$$C_M = \alpha\,(\text{Tot. Lactat} - C_{HM}).$$

Führen wir diesen Wert in obenstehende Gleichung ein, so wird:

$$C_{HM} = \frac{\text{Tot. Lactat}}{1 + \frac{k}{C_H \times \alpha}}.$$

Substituiert man die Zahlen von Tabelle II in dieser Gleichung, so findet man die in Stab 7 der Tabelle IV angeführten Werte. Der besseren Übersichtlichkeit wegen sind in dieser Tabelle nochmals alle erhaltenen Daten zusammengestellt.

Tabelle IV.

ccm n. Na-Lactat zu 90 ccm Molke	Pot. S.-Grad vor dem Brüten	Pot. S.-Grad nach dem Brüten	Tot. Lactat	C_H nach dem Brüten	α	C_{HM} nach dem Brüten
10	8,9 n/10	30,0 n/10	0,121 norm.	$1,78 \times 10^{-5}$	0,79	0,0106 norm.
8	8,9 „	31,2 „	0,1023 „	2,22 × „	0,80	0,0110 „
6	8,9 „	32,4 „	0,0835 „	2,76 × „	0,81	0,0110 „
4	8,9 „	33,2 „	0,0643 „	3,65 × „	0,82	0,0109 „
2	8,9 „	34,4 „	0,0435 „	5,29 × „	0,83	0,0101 „
0	8,9 „	37,2 „	0,0283 „	8,99 × „	0,85	0,0096 „

Vergleicht man Stab 5 und 7, so bekommt man unbedingt den Eindruck, daß es mehr Grund gibt, die Hemmung der Bakterienwirkung den undissoziierten Molekeln, als den Wasserstoffionen zuzuschreiben. Die Zahlen von Stab 7 fallen nahezu konstant aus.

Dieser Versuch wurde einige Male, und zwar mit Kulturen verschiedener Herkunft, wiederholt. In den folgenden Tabellen gebe ich nur die Zahlen von Stab 1, 5 und 7; letztere wurden in völlig gleicher Weise wie oben berechnet.

Die Tabelle VII enthält die Resultate eines Versuchs mit einem andern Nährboden als Molke. Dieser war wie folgt zusammengesetzt: 2 % Milchzucker, 0,75 % Witte-Pepton, gelöst

[1]) Lehrbuch der Allgem. Chem. 2, 1, 752.

[2]) Die Menge der Lactat-Ionen, die den H-Ionen äquivalent sind, können bei einer schwachen Säure wie die Milchsäure vernachlässigt werden.

in einer 0,05 molaren Lösung von Na_2HPO_4, die gegen Lackmus mittels Salzsäure neutralisiert war.

Tabelle V.

ccm norm. Na-Lactat zu 90 ccm Molke	C_H nach dem Brüten	C_{HM} nach dem Brüten
10	$1{,}57 \times 10^{-5}$	0,0091 norm.
8	$1{,}95 \times$ „	0,0095 „
6	$3{,}09 \times$ „	0,0116 „
4	$3{,}24 \times$ „	0,0094 „
2	$4{,}82 \times$ „	0,0092 „
0	$9{,}1 \times$ „	0,0105 „

Tabelle VI.

ccm norm. Na-Lactat zu 90 ccm Molke	C_H nach dem Brüten	C_{HM} nach dem Brüten
10	$1{,}34 \times 10^{-5}$	0,0079 norm.
8	$1{,}40 \times$ „	0,0070 „
6	$1{,}86 \times$ „	0,0074 „
4	$2{,}37 \times$ „	0,0070 „
2	$4{,}21 \times$ „	0,0080 „
0	$6{,}98 \times$ „	0,0074 „

Tabelle VII.

ccm norm. Na-Lactat zu 90 ccm Flüssigkeit	C_H nach dem Brüten	C_{HM} nach dem Brüten
8	$1{,}91 \times 10^{-5}$ norm.	0,0094 norm.
6	$2{,}24 \times$ „ „	0,0090 „
4	$2{,}99 \times$ „ „	0,0088 „
2	$4{,}11 \times$ „ „	0,0072 „
0	$7{,}11 \times$ „ „	0,0061 „

Auch beim Gebrauch einer Peptonlösung zeigt sich also die H-Ionenkonzentration niedriger, je nachdem mehr Lactat zugesetzt war. Die C_{HM}-Werte sind weniger gut konstant als in den vorigen Tabellen; sie zeigen einen ausgesprochenen „Gang“, den ich ohne weiteres nicht erklären kann. Vielleicht verläuft die Gärung in diesem Medium weniger rein als in der Molke, dem natürlichen Nährboden dieser Bakterien. Die Säurebindung durch das Pepton kann auch eine Rolle spielen. Schließlich möchte ich noch einen Versuch mitteilen, in dem Calcium- statt Natriumlactat zur Molke gegeben wurde. Die

Verhältnisse werden in diesem Falle mehr verwickelt dadurch, daß die Calciumsalze nicht unverändert in der Flüssigkeit bestehen bleiben, sondern Umwandlungen unterliegen, bei denen Calciumionen verschwinden, während der potentielle Säuregrad nicht unbedeutend steigt. In der Molke befinden sich nur sehr wenig Calciumionen, wie ich es schon vor acht Jahren gezeigt habe[1]). Die Berechnung der C_{HM}-Werte ist in diesem Falle also etwas unsicher, weil α nicht genau bekannt ist. Jedenfalls wird die große Mehrzahl der in Form von Calciumlactat hinzugefügten Calciumionen festgelegt. Wenn wir für α dieselben Werte der K- und Na-Salze auch in diesem Falle für die Berechnung verwenden, machen wir wahrscheinlich keinen großen Fehler (siehe Tabelle VIII).

Tabelle VIII.

g Ca-Lactat zu 100 ccm Molke	C_H nach dem Brüten	C_{HM} nach dem Brüten
1,09	1,40 × 10^{-5} norm.	0,0080 norm.
0,872	1,53 × " "	0,0073 "
0,654	1,79 × " "	0,0068 "
0,436	2,35 × " "	0,0068 "
0,218	3,61 × " "	0,0073 "
0	5,21 × " "	0,0069 "

Auch hier findet man also eine ziemlich konstante Zahl für C_{HM}, während die C_H-Werte regelmäßig zunehmen.

Aus obigen Erörterungen scheint also hervorzugehen, daß bei der Säuerung von Molke durch die gewöhnlichen kokenförmigen Milchsäurebakterien die Säurebildung schließlich aufhörte infolge der hemmenden Wirkung der undissoziierten Milchsäuremoleküle, die in der Konzentration von rund 0,01 normal die verwendeten Fermente wirkungslos machten.

Ich möchte hier aber sogleich nachdrücklich hervorheben, daß für einen positiven Schluß das Versuchsmaterial noch viel zu wenig umfassend ist.

Führt man den Versuch mit Milch statt Molke aus, so findet man dieselbe Erscheinung, jedoch scheint der Einfluß des Lactats etwas geringer zu sein. Eine Berechnung von

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 58, 295, 1909.

C_{HM} ist in diesem Falle ausgeschlossen, weil die Adsorption der gebildeten Milchsäure an das Koagulum einen sehr unsicheren Faktor bildet. In Tabelle IX findet man einen solchen Versuch mit Milch.

Tabelle IX.

ccm norm. Na-Lactat zu 90 ccm Milch	C_H nach dem Brüten
10	$2{,}81 \times 10^{-5}$ norm.
8	$3{,}24 \times$ " "
6	$3{,}70 \times$ " "
4	$4{,}41 \times$ " "
2	$5{,}37 \times$ " "
0	$6{,}59 \times$ " "

Die bisher erhaltenen Resultate führten zur Frage, ob die Wasserstoffionen auf die Milchsäurebakterien denn überhaupt keine giftige Wirkung haben, während die Kolibacillen durch dieselben gehemmt werden in ihrer Tätigkeit, wie Michaelis und Marcora[1]) fanden. Um dies zu prüfen, wurden weitere Versuche mit Molke angestellt, die ich aber vorher mit so viel Salzsäure ansäuerte, daß bei der nachherigen Milchsäuregärung die sich bildenden ungespaltenen Milchsäuremolekeln die Konzentration 0,01 norm. erst dann erreichten, als die Wasserstoffionenkonzentration bedeutend höher gestiegen war, als es in den obenstehenden Versuchen der Fall war.

Vier Kölbchen mit je 50 ccm Molke wurden mit steigenden Mengen norm. Salzsäure und mit ein wenig der zu prüfenden Kultur versetzt. Nachdem während 6 Tage bei 22° gebrütet war, titrierte ich den Säuregrad, der auch vor dem Brüten bestimmt war. In Tabelle X findet man die erhaltenen Zahlen.

Tabelle X.

ccm norm. Salzsäure zu 50 ccm Molke	C_H vor dem Brüten	Pot. Säuregrad vor dem Brüten	Pot. Säuregrad nach dem Brüten
0,5	$0{,}76 \times 10^{-5}$	18,6	35,0
0,8	$2{,}73 \times$ "	24,3	33,6
1,0	$5{,}70 \times$ "	28,2	32,2
1,3	$17{,}0 \times$ "	34,4	34,2

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsf. 14, 170, 1912.

Aus dieser Tabelle geht deutlich hervor, daß in den drei ersten Kölbchen noch Milchsäurebildung eintrat. In Kölbchen 3 war vor dem Brüten $C_H = 5,7 \times 10^{-5}$, d. h. gleich dem Werte, den die salzsäurefreie Molke lieferte nach dem Brüten, nämlich $5,6 \times 10^{-5}$. Trotzdem haben sich die Milchsäurebakterien noch ein wenig entwickelt. Daß in diesem Kölbchen die Hemmung der Bakterienwirkung nicht den ungespaltenen Milchsäuremolekeln zugeschrieben werden kann, geht daraus hervor, daß die totale Lactatkonzentration nur 0,004 beträgt, diejenige der Säure noch um soviel weniger. Im vierten Kölbchen war keine Spur von Bakterienentwicklung zu beobachten, und es liegt auf der Hand, die H-Ionen dafür als Ursache zu betrachten[1]). Wenn dem wirklich so ist, liegt die „Grenzkonzentration" zwischen 5,7 und 17×10^{-5} norm. H.

Dieser Versuch wurde wiederholt, indem länger gebrütet und mit einer feineren Abstufung der Flüssigkeiten gearbeitet wurde. Überdies bestimmte ich auch nach dem Brüten die C_H-Werte, um die Zahlen für C_{HM} berechnen zu können. Tabelle XI gibt eine Übersicht der Resultate.

Tabelle XI.

	Titer v. d. Brüt. n/10 pro 100 ccm	Titer n. d. Brüt. n/10 pro 100 ccm	C_H vor dem Brüten	C_H nach dem Brüten	C_{HM}
1	8,2[2])	36,0[2])	—	$6,61 \times 10^{-5}$ n.	0,0076 n.
2	23,6	30,8	$3,7 \times 10^{-5}$ n	$8,04 \times$ " "	0,0024 "
3	25,2	31,2	$5,53 \times$ " "	$10,2 \times$ " "	0,0023 "
4	26,0	30,8	$6,86 \times$ " "	$9,9 \times$ " "	0,0024 "
5	27,0	30,8	$7,36 \times$ " "	$11,1 \times$ " "	0,0015 "
6	27,6	30,6	$9,27 \times$ " "	$11,5 \times$ " "	0,0012 "
7	28,8	31,2	13,3 (?) " "	$15,2 \times$ " "	0,0012 "
8	30,0	32,0	$13,3 \times$ " "	$14,6 \times$ " "	0,0009 "
9	31,6	32,8	$17,7 \times$ " "	$17,8 \times$ " "	0,0006 "

Diese Tabelle lehrt folgendes. Die Molke ohne Salzsäure lieferte die Endkonzentration $C_H = 6,61 \times 10^{-5}$. Die Kölbchen 2, 3, 4, 5 und 6, die teilweise vor dem Brüten schon eine höhere C_H-Zahl hatten, zeigten nach dem Brüten C_H-Werte,

---

[1]) Es sei aber darauf hingewiesen, daß die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, daß die Phosphorsäure giftig gewirkt hat. Dies wäre durch gesonderte Experimente zu prüfen.

[2]) Molke ohne HCl.

die auf rund 10×15^{-5} norm. zu stellen sind (2 wurde etwas niedriger gefunden). Aus dem letzten Stabe wurde ersehen, daß die Konzentrationen der Milchsäuremolekeln in allen Kölbchen mit Salzsäure bedeutend niedriger ist als der fatalen Menge entspricht im Kölbchen 1. Wir können somit annehmen, daß die Wasserstoffionen in der Konzentration 10×10^{-5} norm. hemmend gewirkt haben, immerhin mit Vorbehalt der Bemerkung in der Fußnote.

Aber auch in den Kölbchen 7 und 8, und selbst noch sporadisch in 9[1]), in dem vor dem Brüten C_H schon oberhalb 10×10^{-5} norm. gefunden ist, trat noch einige Gärung auf. Wie es öfters der Fall ist bei Studien an Bakterien, ist die Grenze also nicht vollkommen genau anzugeben. In unserem Falle liegt sie offenbar zwischen 10 und 17×10^{-5} norm., und zwar mehr auf der Seite der ersten Zahl.

Diese Resultate scheinen mir insofern interessant — ich möchte aber wiederholen, daß zuerst mehr Material gesammelt werden soll —, daß der gefundene Grenzwert um wenig höher liegt als die, die man bei der Säuerung der Molke findet. Es leuchtet ein, daß die Beantwortung der Frage, ob in einem gewissen Falle die Säureproduktion gehemmt wird, entweder infolge der Wirkung der Wasserstoffionen oder derjenigen der ungespaltenen Säuremolekel, abhängen wird von der mehr oder weniger stark regulierenden Wirkung des Mediums. Könnte man die Gärung stattfinden lassen in einer Milchzuckerlösung ohne irgendeinen Regulator, so würde nach der Formel auf Seite 110 die Nährflüssigkeit den Wert 10×10^{-5} schon erreicht haben, wenn die Konzentration der nichtdissoziierten Moleküle $\frac{(10 \times 10^{-5})^2}{147 \times 10^{-6}} = 0{,}00005$ norm. betrug. Dies ist eine unbedeutende Menge im Vergleich mit der oben gefundenen fatalen Konzentration: 0,01 normal. In einem solchen Falle würden also die H-Ionen der weiteren Bakterienwirkung ein Hindernis stellen. Enthält dagegen der Nährboden große Mengen eines „Puffers",

---

[1]) Nach den Titerzahlen ist noch eine mit 1,2 ccm $^n/_{10}$-Lauge äquivalente Menge Milchsäure gebildet worden. Es wurden 25 ccm titriert; der Fehler ist somit mit 4 multipliziert. Die Zunahme des Titers um 1,2 ccm hätte den C_H-Wert stärker erhöht. Überdies wurde in diesem Kölbchen keine Spur von Trübung beobachtet.

wie es bei Molke der Fall ist — und durch Zugabe von Pepton oder Phosphaten wird die regulierende Wirkung noch verstärkt, wie unten noch dargetan werden soll —, so wird die fatale C_{HM}-Konzentration erreicht, bevor die gefährliche Menge H-Ionen gebildet ist.

Schon oben wurde darauf hingewiesen, daß Michaelis und Marcora[1]) beim Studium der Kolibacillen zu dem Resultate gelangten, daß die Kulturen schließlich einen konstanten Wert für C_H lieferten, unabhängig davon, ob der Nährflüssigkeit vor dem Impfen mehr oder weniger Natronlauge zugesetzt war. Clark[2]) bestätigte insoweit Michaelis' Befund, daß er beim Studium des Endwertes der Wasserstoffionenkonzentration von glucose- oder milchzuckerhaltenden Kulturen von verschiedenen Kolistämmen (Michaelis arbeitete mit nur einem Stamm) schließen konnte, daß dieser Endwert nahezu konstant ist und somit als ein brauchbares biologisches Merkmal für diese Bacillen zu betrachten ist. Clark hat aber nachdrücklich betont, daß der Endwert der H-Ionen niedriger gefunden wird, je nachdem die Pufferwirkung der Nährflüssigkeit stärker war, und er weist aus diesem Grunde darauf hin, daß vielleicht auch die nicht dissoziierten Molekel neben den Wasserstoffionen ein wenig toxisch wirken. Dieser Befund Clarks steht also nicht in Einklang mit Michaelis' Resultaten. Ich führe hier noch einen einzigen Versuch an mit einer zufällig in meinem Laboratorium sich vorfindenden Kolikultur. Als Nährboden diente auch in diesem Falle Molke, die mit steigenden Mengen Natriumlactat versetzt und mit der genannten Kultur geimpft wurde. Nachdem während 6 Tagen bei 37° gebrütet war, wurde die gebildete Säure titriert und C_H gemessen. Tabelle XII gibt die erhaltenen Zahlen für C_H und C_{HM}.

Tabelle XII.

ccm n. Na-Lactat zu 90 ccm Molke	C_H nach dem Brüten	$C_{H.M}$ nach dem Brüten
8	$0,32 \times 10^{-5}$ n.	0,0012 n.
6	$0,47 \times$ „ „	0,0013 „
4	$0,84 \times$ „ „	0,0012 „
2	$1,03 \times$ „ „	0,0014 „
0	$0,98 \times$ „ „	0,00074 „

[1]) l. c. 114.
[2]) Journ. of biol. Chem. 22, 87, 1915.

Diese Tabelle lehrt, daß bei diesem Versuch derselbe Endwert von rund 1×10^{-5} n. H gefunden wurde, wie Michaelis und Clark angeben. Durch Natriumlactat wird dieser Wert auch für Kolibacillen offenbar verringert, und aus dem dritten Stabe ist zu ersehen, daß es auch in diesem Falle mehr Grund gibt, die Hemmung der Gärung den Molekeln als den H-Ionen zuzuschreiben. Auch dieser Versuch steht also nicht im Einklang mit den Resultaten von Michaelis und Marcora. Immerhin kann man aus so einem einzigen Versuch keinen Schluß ziehen. Ich führe denselben nur an, um dadurch zu betonen, daß eine mehr umfangreiche Prüfung dieser interessanten biochemischen Frage als wünschenswert erscheint, wie ich es schon oben für die Milchsäurebakterien aussprach.

Schon jetzt kann aber geschlossen werden, daß man beim Studium der biologischen Eigenschaften der säureproduzierenden Bakterien die regulierende Wirkung der Nährböden genau berücksichtigen muß, wie es schon vor vielen Jahren auf Grund seiner gründlichen Versuche von Timpe[1]) ausgesprochen wurde, dessen Arbeit seitens der Molkereibakteriologen vielleicht zu wenig Beachtung gefunden hat. Dies geht z. B. aus folgenden, der Literatur entnommenen Beispielen hervor.

Gelegentlich des sechsten internationalen Kongresses für Milchwirtschaft in Bern schrieb Orla Jensen[2]): „Die echten Milchsäurebakterien sind nicht nur sehr wählerisch bezüglich der Art der Stickstoffquellen, sondern sie ziehen auch dieselben in sehr großen Konzentrationen vor und sind so z. B. oft nicht in einer Lösung mit nur $^1/_2\,^0/_0$ Witte-Pepton zum Wachstum zu bringen. Um diese Verhältnisse zu erläutern, führe ich die Säuremengen an (in $^1/_4$ norm. pro 100 ccm), die von vier verschiedenen Milchsäurebakterien (I, II, III und IV) in einer Nährsalzlösung mit $2\,^0/_0$ Traubenzucker und verschiedenen Peptonmengen gebildet wurden."

Tabelle XIII.

	Witte-Pepton.				
	$^1/_2\,^0/_0$	$2\,^0/_0$	$5\,^0/_0$	$10\,^0/_0$	$15\,^0/_0$
I	11	24	33	45	53
II	15	32	44	47	50

[1]) Arch. f. Hygiene 18, 1, 1893.
[2]) Milchw. Centralbl. 44, 136, 1915.

Tabelle XIII (Fortsetzung).
Witte-Pepton.

	½%	2%	5%	10%	15%
III	0	7	13	19	25
IV	17	36	52	53	53

Es leuchtet ein, daß man zur Erklärung dieser Zahlen nicht vorauszusetzen braucht, wie der Autor tat, daß die Bakterien die verwendete Stickstoffquelle (Pepton) in sehr großen Konzentrationen vorziehen. Das Pepton wirkt bekanntlich als kräftiger Wasserstoffionenregulator, und es übt bei der Milchsäuregärung also die gleiche Wirkung aus wie z. B. kohlensaurer Kalk. Die Frage nach dem direkten Einfluß der Peptonkonzentration auf das Wachstum der Milchsäurebakterien ist m. E. nicht zu lösen ohne Rücksicht auf die Pufferwirkung dieser Nährsubstanz[1]).

Auch der folgenden Äußerung[2]) dieses Autors kann ich aus demselben Grunde nicht beistimmen: „Was die Stickstoffquellen betrifft, so wissen wir, daß die echten Milchsäurebakterien sehr große Ansprüche stellen und nur dann wachsen, wenn ihnen ganz bestimmte Eiweißstoffe oder Peptone zur Verfügung stehen. Bereits 1898 habe ich gezeigt (Centralbl. f. Bakt. II, Abt. IV, 196), daß verschiedene Milchsäurebakterien besser mit Caseinpepton als mit Fibrinpepton (Pepton Witte) gedeihen. Dies scheint nach meinen späteren Untersuchungen eine allgemeine Regel für die echten Milchsäurebakterien der Milchwirtschaft zu sein; jedoch reagieren nicht alle Arten gleich stark in dieser Richtung, sondern die mehr oder weniger aus-

[1]) In seinen sehr sorgfältig ausgeführten Versuchen fand Koestler (Centralbl. f. Bakt. II. 19, 40, 1907), daß von Bacillus ε aus dem Pepton gegen Phenolphthalein sauer reagierende Substanzen gebildet werden, und zwar in größeren Mengen, je nachdem die Kultur mehr Pepton enthält. Dies beweist aber nicht, wie man bei oberflächlicher Betrachtung meinen könnte, daß die auch von diesem Autor beobachtete Vermehrung der sich bildenden Milchsäure, je nachdem der Molke mehr Pepton zugesetzt wurde, dieser Substanz als Nährstoff zugeschrieben werden muß. Timpe kam sogar in seiner oben zitierten Arbeit zum Schluß, daß die günstige Wirkung der Vermehrung der Eiweissubstanzen in den Kulturmedien für seine Milchsäurebakterien ausschließlich dem Vermögen, Milchsäure chemisch zu binden, zuzuschreiben ist.

[2]) l. c. 118.

gesprochene Vorliebe für Caseinpepton ist eher ein wichtiges Artmerkmal . . ."

Aus diesem Passus scheint mir recht deutlich hervorzugehen, daß die Bedeutung der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Nährflüssigkeiten von diesem Autor übersehen wurde. Was Orla Jensen Caseinpepton genannt hat, ist nämlich laut seiner oben zitierten Abhandlung nichts anderes als peptonisierte Milch, d. h. ein Nährboden von außerordentlich starker Pufferwirkung. Man braucht sich also nicht darüber zu wundern, daß die Milchsäurebakterien in denselben mehr Säure produzieren als in anderen Flüssigkeiten, die weniger stark regulierend wirken[1]).

Um ein Urteil darüber zu gewinnen, in welchem Maße das der Nährflüssigkeit zugesetzte Pepton sowie die peptonisierte Milch selbst Milchsäure zu binden vermag, stellte ich folgenden Versuch an.

Gleiche Volumina sterilisierter Molke wurden mit steigenden Mengen Milchsäure versetzt, mit Wasser auf Volumgleichheit gebracht, und in den so erhaltenen Lösungen bestimmte ich die Wasserstoffionenkonzentration. Dieselbe Molke, der 2 % Pepton zugesetzt war, sowie ein Muster nach Vorschrift von Orla Jensen bereiteter peptonisierter Milch behandelte ich in völlig gleicher Weise. Tabelle XIV gibt die erhaltenen Zahlen, die in nachstehenden Kurven dargestellt sind.

Tabelle XIV.

Zu 100 Nährflüssigkeit	Molke mit 0,077 % N	Molke + 2 % Pepton. 0,364 % N	Pept. Milch 0,395 % N
1. 5 Wasser	0,35 $\times 10^{-6}$ n. H.	0,30 $\times 10^{-6}$ n. H.	0,52 $\times 10^{-6}$ n. H.
2. 4 " + 1 ccm n/2-Milchs.	1,54 $\times$ " " "	1,05 $\times$ " " "	0,87 $\times$ " " "
3. 3 " + 2 " " "	9,73 $\times$ " " "	3,13 $\times$ " " "	1,83 $\times$ " " "
4. 2 " + 3 " " "	21,8 $\times$ " " "	7,4 $\times$ " " "	2,65 $\times$ " " "
5. 1 " + 4 " " "	43,3 $\times$ " " "	13,4 $\times$ " " "	5,63 $\times$ " " "
6. 0 " + 5 " " "	66,2 $\times$ " " "	20,2 $\times$ " " "	11,0 $\times$ " " "

---

[1]) Nachdem das Manuskript dieser Arbeit schon fertig war, erschien eine Arbeit von Euler und Svanberg (Zeitschr. f. physiol. Chem. **100**, 148, 1917) über die Einwirkung von Natriumphosphat auf die Milchsäuregärung durch Bact. casei ε. Die Autoren kommen zum Schluß, daß die Phosphate die Gärung beschleunigen und daß dies nicht der Pufferwirkung der Phosphatlösungen zugeschrieben werden kann. Der von den Verfassern erbrachte Beweis scheint mir aber nicht einwandfrei zu sein.

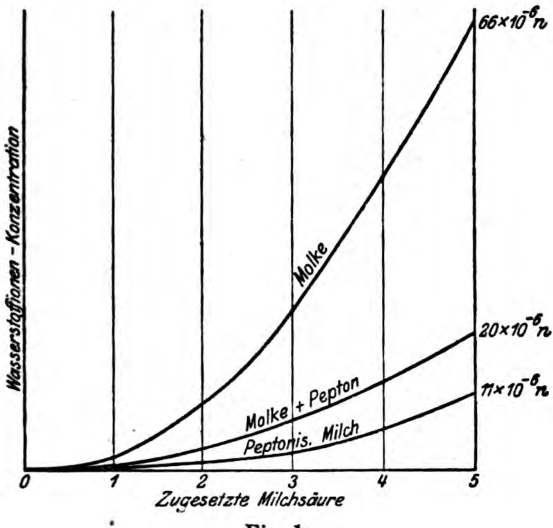


Fig. 1.

Diese Tabelle und die Kurve, die sich darauf bezieht, zeigt ohne weiteres die großen Unterschiede in dem Vermögen, Säure zu binden, von Molke mit und ohne Peptonzugabe, während die peptonisierte Milch ganz so, wie erwartet werden konnte, in dieser Hinsicht die beiden ersten Lösungen noch weit übertrifft. Diejenige Menge Milchsäure, die der Molke den reellen Säuregrad verleiht, der demjenigen der spontan gesäuerten Molke etwa gleichkommt (6×10^{-5}), lieferte in der Peptonmolke einen dreimal, in der peptonisierten Milch einen sechsmal niedrigeren reellen Säuregrad. Es leuchtet ein, daß man beim Studium der biologischen Eigenschaften der Säure produzierenden Bakterien dergleichen Verhältnisse zu berücksichtigen hat.

Zusammenfassung.

Die Frage, ob die Milchsäuregärung durch die gewöhnlichen kokenförmigen Bakterien schließlich aufgehoben wird infolge der Wirkung der entstandenen Wasserstoffionen oder durch diejenige der nicht dissoziierten Milchsäuremolekel, wurde mit Wahrscheinlichkeit dahin gelöst, daß in gesäuerter Molke sowohl erstere als letztere die weitere Gärung hemmen. Fügt man aber der Molke lösliche Lactate zu, durch die die Dissoziation der Milchsäure zurückgedrängt, die Konzentration

der nicht dissoziierten Molekel also vermehrt wird, so wird die weitere Säurebildung aufgehoben, wenn die Konzentration der undissoziierten Molekel etwa 0,01 norm. erreicht hat. In solchen Fällen bleibt die End-H-Ionenkonzentration kleiner als der fatalen Menge, die zu $\pm 10 \times 10^{-5}$ norm. gefunden wurde, entspricht. Fügt man der Molke vor dem Impfen Salzsäure zu, so wird nur so viel Milchsäure gebildet, daß die End-H-Ionenkonzentration 10 à 20×10^{-5} norm. erreicht wird. In diesem Falle bleibt die Menge der undissoziierten Molekel unterhalb der obengenannten fatalen Konzentration; die Hemmung der Gärung wird dann wahrscheinlich durch die Wasserstoffionen verursacht. Ob hier die freie Phosphorsäure vielleicht eine Rolle spielt, wurde nicht geprüft. Es wurde nachdrücklich betont, daß die erhaltenen Resultate durch mehrere Versuche erhärtet werden müssen, weil das vom Autor gelieferte Zahlenmaterial noch zu wenig umfangreich ist. Es wurde weiter darauf hingewiesen, daß man beim Studium der biologischen Eigenschaften der Milchsäurebakterien, im allgemeinen der Säure produzierenden Organismen, die Zusammensetzung der Kulturmedien, namentlich deren Pufferwirkung, mehr in Betracht ziehen muß, als bisweilen geschieht. Dies wurde an ein paar Beispielen aus der Literatur gezeigt. Schließlich wurde die Pufferwirkung von Molke, Peptonmolke und peptonisierter Milch an einigen Zahlen und Kurven gezeigt.

Über den Abbau des Tyrosins durch Bact. coli phenologenes nebst einer Notiz über die Zusammensetzung der Harnphenole des Menschen.

Von

M. Rhein.

(Aus dem Königlichen Hygienischen Institut Posen. [Direktor: Geheimrat Wernicke, z. Zt. Generalarzt.])

(Eingegangen am 5. Januar 1918.)

In einer früheren Mitteilung[1]) wurde berichtet, daß die im menschlichen Darm vor sich gehende Bildung von Phenol auf die Tätigkeit einer besonderen Kolirasse, des Bact. coli phenologenes zurückzuführen ist. In jener Arbeit wurde auch schon versucht, eine Antwort auf die Frage zu geben, ob der Abbau des Tyrosins durch das Bakterium über dieselben Körper geht, die seinerzeit Baumann und Nencki als Zwischenkörper beim Abbau des Tyrosins durch Fäulnis angegeben haben oder ob andere Körper dabei in Betracht kommen. Von diesen postulierten Zwischenkörpern standen damals nur das p-Kresol und die p-Oxybenzoesäure zur Verfügung. Die Prüfung des p-Kresols auf Abbaufähigkeit durch das Bact. coli phenologenes

---

[1]) Rhein, diese Zeitschr. 84, 246, 1917. — Aus Nr. 124 der Chemiker-Ztg. vom 17. 10. 1917 ersehe ich, daß am 22. 1. 1917 A. Berthelot in der Acad. d. Sciences in Paris über einen phenolbildenden Bacillus berichtet hat, der von ihm gemeinschaftlich mit Bertrand aus menschlichen Stühlen isoliert wurde. Nähere Angaben über die Natur dieses „Bac. phenologenes" fehlen im Referat.. Es wird nur erwähnt, daß er auch fakultativ anaerob wachse. Mit großer Wahrscheinlichkeit ist anzunehmen, daß dieser Bacillus identisch ist mit dem von mir unabhängig von Berthelot und Bertrand gefundenen „Bact. coli phenologenes".

konnte überdies nur in unvollkommenem Maße vorgenommen werden, da keine einfache Methode zum Nachweis geringer Phenolmengen in Phenol-Kresolgemischen zur Verfügung stand. Dagegen konnte mit Sicherheit festgestellt werden, daß die p-Oxybenzoësäure mit derselben Leichtigkeit durch das Bakterium zu Phenol abgebaut wird wie Tyrosin.

Durch die große Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. O. Neubauer in München, dem ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen möchte, wurde ich nun in die Lage versetzt, auch noch die anderen mutmaßlichen Zwischenkörper auf ihre Abbaufähigkeit durch das Bact. coli phenologenes hin prüfen zu können. Es sind dies folgende Körper: p-Oxyphenylpropionsäure, p-Oxyphenylessigsäure, p-Oxyphenyläthylamin, p-Oxyphenylbrenztraubensäure, p-Oxyphenyl-α-milchsäure, und p-Oxyphenyläthylalkohol. Sie sind, wie mir Herr Prof. Neubauer mitteilte, teils von ihm selbst, teils von seinen Mitarbeitern synthetisch hergestellt worden.

Es wurden eiweißfreie Nährlösungen hergestellt, die in ihrer Zusammensetzung vollständig der in der früheren Arbeit angewandten Tyrosinlösung entsprachen:

Zwischenkörper	0,075 g
Asparagin	1,25 „
Ammoniumlactat . . .	1,25 „
Kaliumdiphosphat . . .	0,4 „
Magnesiumsulfat . . .	0,04 „
destilliertes Wasser . .	200,0 „

Die Körper lösten sich alle gut auf. Die Lösungen wurden teils in Reagensgläser, teils zu je 50 ccm in Kölbchen abgefüllt und einmal 20 Minuten lang im strömenden Wasserdampf sterilisiert. Die Lösung mit der p-Oxyphenylbrenztraubensäure nahm nach mehrtägigem Stehen eine bräunliche Färbung an, die anderen Lösungen blieben farblos. Beim Überschichten über Formaldehydschwefelsäure bildete die Lösung mit der p-Oxyphenylbrenztraubensäure einen leicht rosa gefärbten Ring, der sich aber deutlich von dem mehr ins Violette spielenden Phenolring unterschied. Die anderen Lösungen erzeugten erst nach lebhaftem Schütteln des Röhrchens einen grünlich-braunen Ring, wie ihn auch schon die Tyrosinlösung gebildet hatte.

Es war somit die Möglichkeit gegeben, entstandenes Phenol schon beim Überschichten der Lösungen über Formaldehydschwefelsäure nachzuweisen. Zur Kontrolle wurden aber auch die in den Kölbchen befindlichen größeren Lösungsmengen beimpft, um den Nachweis des Phenols auch noch durch andere Reaktionen im Destillat erbringen zu können. Weder beim Sterilisieren, noch beim Destillieren mit verdünnter Salzsäure wurde, wie Destillationsversuche mit den unbeimpften Lösungen ergaben, Phenol aus den untersuchten Körpern abgespalten.

Das Wachstum des Bact. coli phenologenes war auf sämtlichen Lösungen ein ebenso gutes wie in der Tyrosinlösung. Die Prüfung auf stattgefundene Phenolbildung geschah nach 48 Stunden und nach 6 Tagen durch Überschichten der Reagensglaslösungen über Formaldehydschwefelsäure und durch Anstellen der Millonschen und der Bromwasserreaktion im Destillat der Kölbchen. Es wurde immer ein negatives Resultat erhalten. Kontrollversuche mit demselben Phenologenesstamm auf Tyrosin- und p-Oxybenzoesäurelösung fielen positiv aus.

Aus dem negativen Ausfall der Phenolreaktionen muß daher geschlossen werden, daß keiner der geprüften Körper beim Tyrosinabbau durch Bact. coli phenologenes als Zwischenkörper in Frage kommt.

Auch die in der früheren Arbeit unbeendet gebliebene Untersuchung über die Abbaufähigkeit des p-Kresols durch das Bakterium konnte zum Abschluß gebracht werden. Es ist mir gelungen, in den verschiedenartigen Farbenreaktionen, die Phenol und p-Kresol beim Mischen mit Diazobenzolsulfosäure in sodaalkalischer Lösung ergeben, ein Mittel zu finden, um geringe Mengen Phenol in p-Kresol-Phenolgemischen nachzuweisen. Mit Hilfe der Marquisschen Reaktion kann man, wie in der früheren Arbeit schon angegeben wurde, in p-Kresol-Phenolgemischen nur Phenolmengen von 50 % an aufwärts nachweisen. Reine p-Kresollösung — benutzt wurden Präparate von Kahlbaum und Merck — bildet mit Diazobenzolsulfosäure (frisch aus salzsaurer Sulfanilsäurelösung und Natriumnitrit hergestellt) und Sodalösung eine bräunlich-rote Färbung, während die entsprechende Phenolfarbe intensiv gelb mit einem Stich ins Grüne ist. Die Unterschiede sind besonders deutlich

bei starker Verdünnung der gefärbten Lösungen. In p-Kresol-Phenolgemischen überwiegt nun die gelbe Farbe des vom Phenol gebildeten Oxyazokörpers in einem solchen Grade, daß man mit Leichtigkeit das Vorhandensein von 4 $^0/_0$, bei einiger Übung sogar schon von 2 $^0/_0$ Phenol in einer Mischung erkennen kann.

Mit Hilfe dieser Farbenreaktion wurde nun das Destillat einer 48stündigen und einer 6tägigen Kultur von Bact. coli phenologenes in eiweißfreien, in der Zusammensetzung den oben angegebenen Nährlösungen entsprechenden, 0,05 $^0/_{00}$ p-Kresollösung auf Phenol geprüft. Das Wachstum war vorzüglich. Es ergab sich stets ein negatives Resultat.

In der früheren Arbeit war auch der Gedanke geäußert worden, daß das p-Kresol im menschlichen Darm wohl durch ganz andere Bakterien als das Phenol erzeugt werde. Mittlerweile ist es mir gelungen, die Bildung des p-Kresols in faulendem Eiweiß auf die Tätigkeit eines sporentragenden, obligat anaeroben Bakteriums zurückzuführen. Es soll später Ausführliches darüber mitgeteilt werden.

Außer mit Bact. coli phenologenes wurden die Röhrchen mit den oben genannten Lösungen der mutmaßlichen Zwischenkörper auch noch mit je einem indolbildenden Koli-, einem indolpositiven und einem indolnegativen Proteusstamm beimpft. In keinem der Röhrchen konnte mit Hilfe der Marquisschen Reaktion Phenol nachgewiesen werden.

Beiläufig sei noch bemerkt, daß die beim Überschichten der unbeimpften Lösung von p-Oxyphenylbrenztraubensäure über Formaldehydschwefelsäure auftretende Rosafärbung genau so aussah wie die in der früheren Arbeit in einer Fußnote erwähnte Färbung, die beim Überschichten von mit Bact. proteus beimpften Tyrosinlösungen entstand. Damals konnte durch Destillieren kein Phenol nachgewiesen werden, und es war die Vermutung geäußert worden, daß die Färbung auf der Anwesenheit der p-Oxyphenylpropionsäure beruhen könnte. Dies ist nach den oben beschriebenen Überschichtungsergebnissen mit den unbeimpften Lösungen ausgeschlossen, aber vielleicht bildet Bact. proteus aus Tyrosin p-Oxyphenylbrenztraubensäure. Spätere Untersuchungen sollen darüber entscheiden.

Die beschriebenen Versuche haben ergeben, daß von sämtlichen postulierten Zwischenkörpern nur die p-Oxybenzoesäure vom Bact. coli phenologenes zu Phenol abgebaut wird. Da wohl kaum noch andere Zwischenkörper in Frage kommen dürften, liegt es nahe, anzunehmen, daß der Angriff des Tyrosins durch das Bakterium unter gleichzeitiger Oxydation am β-Kohlenstoffatom der Alaninkette erfolgt.

```
   C·CH₂·CH·COOH       C·COOH            C·H
  //  \    NH₂        //  \            //  \
HC     CH           HC     CH        HC     CH
 |     ||  ──────→   |     ||  ─────→ |     ||
HC     H            HC     CH        HC     CH
  \\  /               \\  /            \\  /
   C·OH                C·OH             C·OH
```

Ein Abbau von Aminosäuren unter Spaltung in der β-Stellung ist bis jetzt weder bei der Tier- noch bei der Pflanzenzelle beobachtet worden. Bei Besprechung der Glykokollbildung im Tierkörper spricht Abderhalden[1]) die Vermutung aus, daß das Glykokoll durch oxydative Spaltung der Aminosäuren am β-C-Atom entstehen könnte. Knoop[2]) hat nun in der Tat gezeigt, daß β-Phenylserin im Tierkörper unter Benzoesäurebildung gespalten wird. Andere, am β-C-Atom nicht oxydierte Phenylaminosäuren verhielten sich aber nicht so. Es scheint also der Tierkörper nur dann die Aminosäuren am β-C-Atom angreifen zu können, wenn dieses C-Atom schon teilweise oxydiert ist. Es ist anzunehmen, daß entsprechend dem Knoopschen Versuch das p-Oxy-β-phenylserin vom Tierkörper unter Bildung von p-Oxybenzoesäure gespalten werden und erst recht vom Bact. coli phenologenes zu p-Oxybenzoesäure und weiter zu Phenol abgebaut werden würde.

Mit Hilfe der oben beschriebenen verschiedenartigen Färbungen der aus Phenol und p-Kresol gebildeten Oxyazokörper und der Marquisschen Farbenreaktion kann man leicht demonstrieren, daß die „Harnphenole" des Menschen aus einem Gemisch von Phenol und p-Kresol bestehen. Es entsteht einerseits beim Überschichten des Harndestillats über Formaldehyd-

[1]) Abderhalden, Lehrbuch der physiol. Chemie, 1, 626, Berlin-Wien (Urban-Schwarzenberg) 1914.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 151, 1914.

schwefelsäure der braune Ring des p-Kresols, andererseits beim Mischen der Lösung mit Diazobenzolsulfosäure und Sodalösung die intensiv gelbe Färbung des aus Phenol gebildeten Farbstoffes. Es konnte auf diese Weise im Destillat von 10 Harnproben, die von gesunden, sich mit gemischter Kost ernährenden Männern stammten, stets die Anwesenheit von p-Kresol und Phenol festgestellt werden. Der Farbenring der Marquisschen Reaktion zeigte nie eine Andeutung von Violett, sondern war hellbraun, in einer Probe dunkelbraun. Die Phenolmenge mußte also geringer als 50% sein. Die Phenolfärbung war stets intensiv gelb bis auf die Probe, die auch mit Formaldehydschwefelsäure sich etwas anders verhalten hatte. In diesem letzteren Falle war die Färbung mehr dunkelgelb, ähnlich der einer p-Kresol-phenolmischung mit etwa 10% Phenol. Der Gehalt an Phenol schwankte also in den 10 Proben zwischen 10 und 50%. Dieser Befund deckt sich gut mit den Ergebnissen von Siegfried und Zimmermann[1]), die als mittlere Werte 42% Phenol und 58% Kresol erhalten haben.

Zusammenfassung.

1. Das Bact. coli phenologenes bildet außer aus Tyrosin nur noch aus p-Oxybenzoesäure Phenol. Folgende Körper gaben bei entsprechender Prüfung negative Ergebnisse: p-Oxyphenylpropionsäure, p-Oxyphenylessigsäure, p-Oxyphenylbrenztraubensäure, p-Oxyphenyläthylamin, p-Oxyphenyläthylalkohol, p-Oxyphenyl-α-milchsäure und p-Kresol. Es erscheint daher die Annahme berechtigt, daß der Abbau des Tyrosins durch das Bakterium unter Angriff am β-C-Atom der Alaninkette und gleichzeitiger Oxydation erfolgt.

2. In den verschiedenartigen Färbungen, die Phenol- und p-Kresollösungen beim Überschichten über Formaldehydschwefelsäure und beim Mischen mit Diazobenzolsulfosäure in sodaalkalischer Lösung erzeugen, ist ein Mittel gegeben, um auf einfache Weise die Anwesenheit von Phenol und p-Kresol in den „Harnphenolen“ des normalen Menschen zu demonstrieren.

[1]) Diese Zeitschr. **34**, 471, 1911.

Über die Wirkung der Cyanhydrine auf Fermente und Bakterien.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 14. Januar 1918.)

In einer früheren Mitteilung war gezeigt worden, daß die Harnstoffspaltung durch die Urease der Sojabohne unter dem Einfluß von Acetaldehydcyanhydrin erheblich verstärkt wird, während Acetaldehyd die Urease energisch schädigt. Es wurde sofort experimentell sichergestellt, daß hier keine allgemeine Cyanhydrinwirkung vorliegt. Denn Benzaldehydcyanhydrin schädigt ebenso intensiv wie Benzaldehyd selbst die Urease. Vom Acetaldehyd zum Benzaldehyd ist aber ein weiter Weg. Um die Spezifität der Acetaldehydcyanhydrinwirkung zu prüfen, erschien es wünschenswert, eine möglichst nahestehende Substanz auf ihre Wirkung zu prüfen. Daher habe ich die Einwirkung des Propylaldehyds und seines Cyanhydrins auf die Soja-Urease untersucht. Eine tabellarische Gegenüberstellung der erhaltenen Zahlen zeigt am besten, wie verschieden sich die beiden Cyanhydrine verhalten.

Der Unterschied ist unverkennbar. Während die Aldehyde sich ziemlich gleich verhalten, fehlt dem Cyanhydrin des Propylaldehyd vollkommen die verstärkende Wirkung. Das Cyanhydrin schädigt sogar mehr als der Propylaldehyd selbst die Urease. Über die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens der beiden einander so nahestehenden Cyanhydrine läßt sich vorläufig noch nichts aussagen. Die Klärung muß von weiteren Untersuchungen erwartet werden.

Versuche mit Soja-Urease.

Acetaldehydcyanhydrin und Propylaldehydcyanhydrin.

Menge des Cyanhydrins in ccm	Acetaldehydcyanhydrin		Propylaldehydcyanhydrin	
	mit	ohne	mit	ohne
1,0	80,6 82,4	64,2	2,3 2,8	70,1
0,5	92,6 96,4			
0,2	68,1 78,9	54,8 57,6		
0,1	74,8 75,5		4,2 4,7	63,7
0,05	73,9 75,4	67,1		
0,025	69,5 70,7	67,2		
0,01			39,9 41,6	62,8 63,5

Acetaldehyd und Propylaldehyd.

Menge des Aldehyds in ccm	Acetaldehyd		Propylaldehyd	
	mit	ohne	mit	ohne
1,0	4,2 5,6	66,0 67,6		
0,5	5,7 7,0		4,1 4,8	62,8 63,5
0,1	17,5 17,7	58,6 59,1	27,9 28,3	67,7
0,1	19,4 19,5	50,0		
0,1	21,8 23,6	58,0 59,0		

Nach Analogie unserer früheren Vergiftungsstudien haben wir nun auch die Wirkung der Cyanhydrine auf die Harnstoffspaltung durch Bakterien untersucht, wobei sich bemerkenswerte Resultate ergaben. Zum Vergleich wurden auch die dazugehörigen Aldehyde herangezogen. Die Anordnung schließt sich ganz an die früheren Versuche an. Als Bakterien dienten Bouillonkulturen des auch früher verwandten Proteusstammes. Die Gesamtmenge der Flüssigkeit beträgt in jeder Probe 31 ccm.

Versuche mit Bakterien.

Acetaldehydcyanhydrin

Menge des Cyanhydrins in ccm	mit	ohne
0,2	3,8 3,8	43,1
0,02	4,3 4,5	} 64,7
0,01	4,2 4,7	
0,002	1,4 1,7	} 14,3 14,4
0,001	1,4 2,0	
0,0004	3,8 4,0	} 60,0 61,7
0,0002	3,5 4,2	
0,0001	4,0 5,6	} 49,9 52,9
0,00005	32,0 33,8	

Acetaldehyd

Menge des Aldehyds in ccm	mit	ohne
0,01	2,4 3,0	} 30,0
0,01	5,6 11,8	} 47,4 52,9
0,001	46,8 48,4	
0,001	19,2 22,4	30,0

Aus den Versuchen geht mit Sicherheit hervor, daß die untersuchten Cyanhydrine, und zwar sowohl das Acetaldehydcyanhydrin wie das Propylaldehydcyanhydrin, sehr intensiv die Harnstoffspaltung durch Proteusbakterien hemmen, und zwar erheblich kräftiger als die entsprechenden Aldehyde. Bruchteile von Milligrammen der Cyanhydrine sind schon absolut wirksam.

Propylaldehydcyanhydrin

<table>
<tr><th>Menge des Cyanhydrins in ccm</th><th>mit</th><th>ohne</th></tr>
<tr><td>0,002</td><td>1,1
2,6</td><td rowspan="2">21,0
23,2</td></tr>
<tr><td>0,001</td><td>1,5
1,6</td></tr>
<tr><td>0,0002</td><td>11,1
12,3</td><td>21,9</td></tr>
<tr><td>0,0002</td><td>3,6
3,7</td><td>26,8
30,0</td></tr>
<tr><td>0,0001</td><td>21,2
26,6</td><td>21,9</td></tr>
<tr><td>0,0001</td><td>3,7</td><td rowspan="2">20,4
20,7</td></tr>
<tr><td>0,00005</td><td>4,2
4,3</td></tr>
<tr><td>0,00002</td><td>23,7
27,8</td><td>26,8
30,0</td></tr>
<tr><td>0,00002</td><td>24,2
26,0</td><td rowspan="2">24,6
27,0</td></tr>
<tr><td>0,00001</td><td>24,6
27,4</td></tr>
</table>

Propylaldehyd

<table>
<tr><th>Menge des Propylaldehyds in ccm</th><th>mit</th><th>ohne</th></tr>
<tr><td>0,2</td><td>2,2
2,4</td><td rowspan="2">28,5
30,0</td></tr>
<tr><td>0,01</td><td>4,1
4,6</td></tr>
<tr><td>0,002</td><td>19,1
21,2</td><td rowspan="2">24,0
24,8</td></tr>
<tr><td>0,001</td><td>23,6
25,6</td></tr>
</table>

Früher haben wir bereits die wichtige Frage diskutiert, inwiefern die Hemmung der Fermentbildung identisch ist oder wenigstens parallel geht mit der Entwicklungshemmung der Bakterien überhaupt. Für die damals untersuchten Gifte (Sublimat, Cyankalium, Nickeloxydul) konnten wir zunächst sicherstellen, daß die Dosen, die eine absolute Hemmung der Fermentbildung bewirken, die Bakterien nicht abtöten. Denn wir

konnten aus den fermentativ unwirksamen Mischungen die Bakterien wieder herauszüchten. Es ist wahrscheinlich, daß Hemmung der Fermentbildung und allgemeine Entwicklungshemmung oft miteinander parallel gehen werden. Besonders interessant werden jedoch Fälle sein, in denen die Fermentbildung gehemmt ist, ohne daß die allgemeine Entwicklung gleichzeitig gehemmt ist. Die oben erwähnten Versuche der Herauszüchtung der Bakterien aus den fermentativ unwirksamen Gemischen beweisen die theoretische Möglichkeit eines solchen Verhaltens. Im gleichen Sinne spricht auch die von uns gefundene Tatsache, daß Proteus bei Leucinmangel gut wächst, ohne daß die Bakterien Urease bilden. Wir werden nun an dem Beispiele der Cyanhydrine sehen, daß auch Gifte ganz umgrenzt nur die Fermentbildung hemmen können.

Die Versuche wurden nach dem von Schäffer[1]) in seinen Untersuchungen mit Chininpräparaten angewandten Schema angeordnet. Neben Proteus wurde auch B. coli benutzt. Beide Cyanhydrine wurden mit beiden Bakterienarten geprüft. Von dem Versuch mit Acetaldehydcyanhydrin gegenüber Proteus geben wir das Protokoll ausführlich wieder, von den übrigen gleichzeitig angesetzten Versuchsreihen, um Raum zu sparen, nur die Resultate.

Tabelle.

Stammlösung: 0,1 Acetaldehydcyanhydrin auf 20 Wasser.

Verdünnung: 1 ccm der Stammlösung auf 10 Wasser.

In jedes Röhrchen kommen 4 ccm Bouillon, dazu verschiedene Mengen der Giftlösung und so viel Wasser, daß überall gleiches Volumen besteht. — Selbstverständlich wurde alles vorher sorgfältig sterilisiert, nur die Giftlösungen wurden nicht erhitzt.

1.	1	ccm	Stammlösung,	0	Wasser,	Konzentration	1 : 1000
2.	0,5	„	„	0,5	„	„	1 : 2000
3.	0,25	„	„	0,75	„	„	1 : 4000
4.	1	„	Verdünnung,	0	„	„	1 : 10000
5.	0,5	„	„	0,5	„	„	1 : 20000
6.	0,25	„	„	0,75	„	„	1 : 40000
7.	0	„	„	1	„	„	0

[1]) Diese Zeitschr. 83.

Zu jeder Probe kommt ein Tropfen einer 48stündigen Proteusbouillonkultur.

Schon am nächsten Tage sind Proben 2 bis 7 trübe, während 1 dauernd (8 Tage) klar bleibt.

Ein gleichzeitiger Versuch der Einwirkung von Acetaldehydcyanhydrin auf B. coli fällt genau wie der Versuch mit Proteus aus.

Ein ebenfalls gleichzeitiger Versuch der Einwirkung von Propylaldehydcyanhydrin auf Proteus und B. coli ergibt, daß auch Probe 1 nicht steril bleibt: Bei Proteus beginnt sichere Trübung nach 48 Stunden, bei Coli nach 72 Stunden.

Nach diesen Versuchen hemmen die beiden Cyanhydrine nur sehr mangelhaft die Bakterienentwicklung. Beim Acetaldehydcyanhydrin ist eine Konzentration von 1 : 1000 notwendig, bei dem Propylaldehydcyanhydrin reicht selbst diese starke Konzentration noch nicht einmal aus. Allerdings sind die Entwicklungsbedingungen sehr günstig gewählt, indem auf 5 ccm Flüssigkeit 4 ccm Bouillon kommen. Bei unseren Fermentversuchen mit Bakterien genügen aber schon kleinere Mengen als $^{1}/_{10}$ mg bei einer Flüssigkeitsmenge von über 30 ccm. Es ist also schon eine Konzentration von weniger als 1 : 300000 ausreichend.

Ergebnisse.

Während Acetaldehydcyanhydrin energisch die Wirkung der Soja-Urease verstärkt, hemmt Propylaldehydcanhydrin diese Wirkung sehr deutlich.

Beide Cyanhydrine sind starke Hemmungsgifte für die Fermentbildung der Bakterien, während sie nur sehr mäßig auf die allgemeine Bakterienentwicklung hemmend einwirken.

Zur Methodik der Kohlenstoffbestimmung auf nassem Wege.

Von

Wilhelm Stepp.

(Aus der Medizinischen Klinik zu Gießen.)

(Eingegangen am 18. Januar 1918.)

Mit 1 Figur im Text.

Bei Untersuchungen über den sog. Restkohlenstoff des Blutes, mit denen ich mich in den letzten Jahren beschäftigte[1], hatte ich mich des von Spiro modifizierten Messinger-Huppertschen Verfahrens in der Form, wie es Mancini[2]) benutzt hatte, bedient. Will man dabei einigermaßen gut stimmende Werte erhalten, so muß man peinlichst auf eine Reihe von Dingen achten, auf die in der Literatur leider an keiner Stelle zusammenfassend hingewiesen wird. Ich habe die bei einer sehr großen Zahl von Einzelbestimmungen gemachten technischen Erfahrungen bereits mitgeteilt[3]). Aber, trotzdem die Doppelbestimmungen bei sorgfältigstem Arbeiten im allgemeinen gut stimmten, geschah es dann und wann, daß keine sicheren Werte zu erhalten waren. Manchmal waren sie offensichtlich zu hoch, ein anderes Mal wieder zu niedrig. Woran das lag, konnte ich lange Zeit nicht ergründen, und ich bemühte mich daher dauernd, die Methode so auszugestalten, daß derartige Unsicherheiten nicht mehr vorkommen. Mit der freundlichen

---

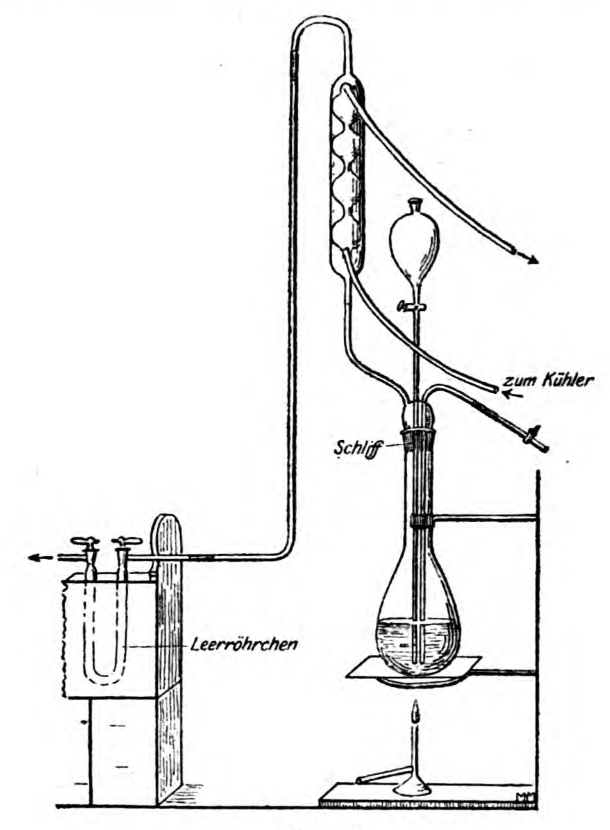
[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **97**, 213, 1916; Deutsches Arch. f. klin. Med. **120**, 384, 1916; ebenda **124**, 177, 1917.

[2]) Diese Zeitschr. **26**, 149, 1916.

[3]) l. c. Deutsches Arch. f. klin. Med. **120**, 385, 1916, und **124**, **177**, **1917**.

Unterstützung des Assistenten am hiesigen Chemischen Untersuchungsamt, Herrn Dr. Möser, gelang es mir nun, in den letzten Monaten, die Methode weiter zu verbessern und damit durchweg ganz ausgezeichnet stimmende Werte zu erhalten. Da meine früheren Bemerkungen zur Methodik sich in verschiedenen Arbeiten verstreut finden, möchte ich sie kurz im Zusammenhang neben den neuen Erfahrungen hier wiedergeben.

Zunächst ein Wort über den Zersetzungskolben! Bei der Form, in der er bisher benutzt wurde und in der er in den Lehrbüchern abgebildet ist[1]), muß man damit rechnen, daß Säuredämpfe durch den Apparat in die Absorptionsröhrchen



Figur 1.

[1]) Siehe z. B. P. Rona in Abderhaldens Handbuch der Bioch. Arbeitsmethoden, Berlin 1910, I, 360.

gelangen, daß sie dabei nicht nur die Schlauchverbindungen angreifen, sondern auch unter Umständen absorbierte CO_2 wieder frei machen. Den Nachweis von Säuredämpfen habe ich durch Streifen von Lackmuspapier geführt, die ich in Leerröhrchen hinter dem Zersetzungskolben gebracht hatte. Da sich hieraus unkontrollierbare Fehler ergeben konnten, habe ich das zu den U-Röhrchen führende Ansatzstück des Kolbens mit einem Kühler umgeben lassen. Dadurch wurden die Säuredämpfe kondensiert und flossen in den Zersetzungskolben zurück. Aus der Figur ist die Anordnung ohne weiteres verständlich.

Vor einigen Jahren haben F. Tangl und G. v. Kereszty[1]) eine Modifikation des Brunner-Messingerschen Verfahrens zur Bestimmung des Kohlenstoffs organischer Substanzen auf nassem Wege mitgeteilt, bei dem der ganze Hals des Zersetzungskolbens gekühlt wird. Die Autoren rühmen die geringe Zerbrechlichkeit ihres Apparates. Mir scheint unsere Kühlvorrichtung übersichtlicher und dabei nicht empfindlicher zu sein. Was am leichtesten zu Schaden kommt, das sind die Kolben.

Die Reagenzien, mit denen man arbeitet, müssen selbstverständlich sicher kohlenstofffrei sein.

1. Schwefelsäure[2]): Nach meiner Erfahrung genügt es, um das zu erreichen, nicht, die Schwefelsäure, die man benutzen will, vorher mit Kaliumbichromat zu erwärmen, wie das Tangl und Kereszty[1]) vorschlagen. Eine Verunreinigung durch schwer verbrennliche Substanzen (z. B. paraffinartige Körper) würde nämlich dadurch nicht sicher zerstört werden und könnte später bei der Bestimmung zu hohe CO_2-Werte bewirken. Ich habe daher meine Schwefelsäure in folgender Weise präpariert: Sie wurde erst mit Kaliumbichromat gekocht, dann sie erkalten gelassen; darauf wurde fein gepulvertes Kaliumpermanganat zugesetzt und sie dann nochmals erhitzt. Eine so vorbereitete Schwefelsäure entwickelte im blinden Versuch auch bei vielstündigem Erhitzen mit Chromsäure keine CO_2 mehr.

2. Kaliumbichromat: Trotzdem das Kaliumbichromat vor seiner Verwendung stets im Porzellantiegel geschmolzen

---

[1]) Diese Zeitschr. **32**, 266, 1911.

[2]) Thiele und Marais, Annal. d. Chem. **273**, 151, 1893.

wurde, erlebte ich es öfters, daß beim Erhitzen einer Probe davon mit einer in der vorhin beschriebenen Weise sicher kohlenstofffrei gemachten Schwefelsäure im vorgelegten Baryt-Röhrchen ein Niederschlag von Baryumcarbonat auftrat. Man mußte daraus schließen, daß das Kaliumbichromat mit Carbonaten verunreinigt war. Um diesen Unsicherheiten aus dem Wege zu gehen, habe ich später statt des Kaliumsalzes Chromsäure selbst verwendet, und zwar das Präparat „Acid. chromic. pur. cryst. Merck". Dieses war stets zuverlässig kohlenstofffrei. Brachte man nun die beiden Reagenzien, Chromsäure und Schwefelsäure, zusammen, so trat niemals Kohlensäureentwicklung auf.

Auf die Vorsichtsmaßregeln, die bei der Füllung der Absorptionsröhrchen zu beobachten sind, sei nur ganz kurz hingewiesen[1]): der Natronkalk muß genügend feucht sein, wovon man sich durch Erhitzen einer Probe im trockenen Reagensglas zu überzeugen hat. Dabei sollen sich Wasserdämpfe entwickeln, die sich am oberen Ende des Probierrohrs niederschlagen. Die Schliffe an den mit Natronkalk beschickten U-Röhrchen müssen absolut dicht sein und nach dem Einfetten gleichmäßig durchsichtig erscheinen. Man achte darauf, daß nirgendwo oberhalb des Schliffes kleine Fetteilchen sitzen, die eventuell beim Abwischen verloren gehen und Gewichtsverlust veranlassen könnten. Der dem Zersetzungskolben abgekehrte Schenkel der Natronkalkröhrchen sei nur etwa zu $^7/_8$ mit Natronkalk, der Rest mit Chlorcalcium gefüllt. Die Chlorcalciumstücke dienen dazu, das bei der Absorption der Kohlensäure durch den Natronkalk frei werdende Wasser wieder zu binden.

Beim Wiegen der Absorptionsröhrchen sehe man darauf, daß die Temperatur des Wägezimmers womöglich eine gleichmäßige sei. Vor dem Wiegen müssen die Absorptionsröhrchen längere Zeit im Wägezimmer gelegen haben. Frisch gefüllte Röhrchen müssen erst mehrere Tage Gewichtskonstanz gezeigt haben, ehe man sie benutzt. Man durchforsche öfters die Ansatzstücke der U-Rohre auf Chlorcalciumteilchen mit der Lupe! Die Anordnung, die sich mir schließlich am besten be-

---

[1]) Vgl. in Neubauer-Hupperts Analyse des Harns, 9. Aufl., Wiesbaden 1910, den Abschnitt von W. Wiechowski über Bestimmung des Kohlenstoffs, S. 503, und Dennstedt im Handbuch der Biochem. Arbeitsmethoden I, 329 bis 330.

währte, war bei den Bestimmungen die folgende: Das den Kühler tragende, den Absorptionsröhren zugewendete Ansatzrohr des Zersetzungskolbens gibt — eben durch den Kühler — dem Apparat eine gewisse Höhe, so daß für die Verbindung zu den U-Röhren ein längeres Glasrohr nötig ist. Ein Blick auf die Figur erklärt die Verhältnisse am besten. Als erstes U-Rohr — gewissermaßen als Kontrolle dafür, daß der Kühler alle Dämpfe gut kondensiert — habe ich ein leeres Rohr vorgelegt. Dann folgen zwei Röhrchen, in denen mit Schwefelsäure benetzte Glasperlen sich befinden, dann die beiden Natronkalkröhrchen, nach ihnen zum Schutz gegen etwa von rückwärts bei Druckdifferenzen eintretende Wasserdämpfe 1 Chlorcalcium- und 1 Schwefelsäureröhrchen, dann ein Natronkalkturm und schließlich eine Kalilaugenflasche. Daß die in den Zersetzungskolben eintretende Luft vorher von Wasserdampf und Kohlensäure durch eine ebensolche Apparatur befreit wird, braucht nicht besonders betont zu werden.

Vor jeder Bestimmung wird der Apparat durch Luftdurchleiten kohlensäurefrei gemacht, nachdem schon vorher die Schwefelsäure in ihn gebracht ist. Dann lasse ich — bei den C-Bestimmungen im Phosphorwolframsäurefiltrat des Bluts — die genau abgemessene Menge der zu verbrennenden Flüssigkeit durch den Trichter ganz langsam zufließen, während ich sorgfältig darauf achte, daß nicht mehr als höchstens 40 Luftblasen in 1 Minute durch die Schwefelsäure-U-Röhrchen hindurchgehen. Die im Trichter haftenden Reste des Filtrats werden durch Nachspülen mit wenigen Kubikzentimetern frisch abgekochten, mit Schwefelsäure angesäuerten Wassers in die Kolben gespült, dann wird vorsichtig erhitzt und erst langsam die Flamme vergrößert.

Große Schwierigkeiten fand ich darin, mit Sicherheit zu entscheiden, wann eine Verbrennung beendet ist. Es wird gewöhnlich angegeben, daß sich dies daran erkennen lasse, daß in der Flüssigkeit im Zersetzungskolben keine Bläschen mehr aufsteigen und daß sie eine tiefgrüne Farbe angenommen hat. Mancini[1]) gibt an, daß bei der Verbrennung von Flüssigkeiten, die Phosphorwolframsäure enthalten, im Minimum mit einer

---

[1]) l. c.

Dauer von 7 Stunden gerechnet werden müsse. Bei der Verarbeitung der durch Phosphorwolframsäurefällung verschiedener Blutarten erhaltenen Filtrate war ich nicht immer ganz sicher, ob die Verbrennung eine vollständige sei. Es schien, als ob sie das eine Mal schwerer als das andere Mal erfolge, und es war ja in der Tat nicht unmöglich, daß manche Blutproben schwerer oxydierbare Substanzen enthielten. Ich habe daher auf Vorschlag von Herrn Dr. Möser auf die Oxydation mit Chromsäure noch eine solche mit Kaliumpermanganat folgen lassen. Dabei verfuhr ich folgendermaßen: Nach etwa 3- bis 4stündigem Erhitzen mit Chromsäure wird Luft durchgeleitet und dann der Kolben abkühlen gelassen. Nachdem der Zersetzungskolben vollkommen erkaltet ist, läßt man durch den Trichter etwa 10 ccm einer Kaliumpermanganatlösung (5 : 1000), die nach den Vorschriften Treadwells[1]) zubereitet und vor der Verwendung kurz erhitzt und wieder abgekühlt ist, langsam einfließen. Dann wird nochmals zuerst langsam, dann kräftig etwa 1 Stunde erhitzt und nochmals Luft durchgeleitet. Hier ist besonders darauf zu achten, daß mit dem Luftdurchleiten nicht früher aufgehört wird, als bis aller Sauerstoff aus der ganzen Apparatur entfernt ist. Das erkennt man daran, daß die aus dem Apparat austretenden Gasblasen einen glimmenden Fichtenspan nicht mehr zum Aufleuchten zu bringen vermögen.

Seit ich nach dieser Methode meine Kohlenstoffbestimmungen ausführe, habe ich niemals auch nur die geringsten Schwierigkeiten mehr gehabt.

Im folgenden seien einige Analysen gebracht, die beweisen, wie genau die Methode arbeitet. Ich bemerke ausdrücklich, daß sie nicht besonders ausgewählt sind. Da gute Übereinstimmung der bei der Analyse gleichgroßer Substanzmengen erhaltenen CO_2-Werte nicht mit Sicherheit ausschließt, daß gleichgroße aliquote Teile der gefundenen Kohlensäure etwa aus den Reagenzien stammen, so habe ich für die Doppelbestimmungen stets verschiedene Mengen zur Verbrennung genommen, z. B. 50 und 25 ccm. Entsprachen nun die gefundenen Werte genau den verwendeten Substanzmengen, so war auch

[1]) Treadwell, Lehrb. d. analyt. Chem. 2, 75, 1907.

damit bewiesen, daß die Reagenzien kohlenstofffrei sein mußten. Denn sonst hätte sich, da die Menge der Reagenzien stets die gleiche war, bei der Bestimmung der kleineren Substanzmengen ein relativ zu hoher Wert ergeben müssen.

Filtrate von Blutproben, die mit Phosphorwolframsäure gefällt sind.

I. 1. 25 ccm Filtrat (entspr. 3,5046 ccm Blutserum) ergeben 0,0302 g CO_2

2. 50 ccm Filtrat (entspr. 7,0093 ccm Blutserum) ergeben 0,0607 g CO_2

Die Berechnung des Kohlenstoffs ergibt für 1. 0,234 %,
für 2. 0,235 %.

II. 1. 25 ccm Filtrat (entspr. 3,9267 ccm Gesamtblut) ergeben 0,0445 g CO_2

2. 50 ccm Filtrat (entspr. 7,8534 ccm Gesamtblut) ergeben 0,0887 g CO_2

Die Berechnung des Kohlenstoffs ergibt für 1. 0,308 %,
für 2. 0,307 %.

III. 1. 25 ccm Filtrat (entspr. 3,5046 ccm Blut) ergeben 0,0297 g CO_2

2. 25 ccm Filtrat (entspr. 2,5[1]) ccm Blut) ergeben 0,0213 g CO_2 } Mittel 0,212

3. 25 ccm Filtrat (entspr. 2,5 ccm Blut) ergeben 0,0211 g CO_2

Die Berechnung des Kohlenstoffs ergibt für 1. 0,23 %,
für 2. und 3. 0,23 %.

Gegen die Messinger-Huppertsche Methode war vielfach geltend gemacht worden, daß die dabei erhaltenen Werte etwas zu niedrig seien, da in kleinen Mengen auch Kohlenoxyd entstehe und dieses der Absorption entgehe. Um zu prüfen, ob die nachträgliche Oxydation mit Kaliumpermanganat allen Kohlenstoff in CO_2 überführt, habe ich in einigen Versuchen hinter den Zersetzungskolben eine mit Kupferoxyd gefüllte Röhre geschaltet und sie während der ganzen Verbrennung in schwacher Rotglut erhalten. Wie die erhaltenen Werte zeigen, sind in

[1]) Andere Fällung wie bei 1.

den Versuchen, in denen die aus den Zersetzungskolben austretenden Dämpfe über das glühende Kupferoxyd streichen, die CO_2-Werte nicht höher als in den Kontrollen.

Bestimmungen mit Kupferoxydröhre:

1. 50 ccm Filtrat (entspr. 7,0583 ccm Blut) ergeben 0,0758 g CO_2
2. 25 „ „ („ 3,5292 „ „) „ 0,0384 g „

Die Berechnung des Kohlenstoffs ergibt für 1. 0,292 %,
für 2. 0,295 %.

Bestimmungen ohne Kupferoxydröhre:

1. 50 ccm Filtrat (entspr. 7,0583 ccm Blut) ergeben 0,0764 g CO_2
2. 25 „ „ („ 3,5292 „ „) „ 0,0379 g „
3. 50 „ „ („ 7,0583 „ „) „ 0,0761 g „

Die Berechnung des Kohlenstoffs ergibt für 1. 0,294 %,
für 2. 0,292 %,
für 3. 0,292 %.

Zum Schlusse führe ich noch einige Verbrennungen von Bernsteinsäure, einer schwer oxydierbaren Substanz, an:

1. 0,0552 g, berechnet: 0,0823 g CO_2
gefunden: 0,0822 g „
2. 0,0609 g, berechnet: 0,0908 g „
gefunden: 0,0906 g „

Die ausgezeichnete Übereinstimmung der gefundenen mit den berechneten Werten zeigt, wie genau die Methode arbeitet. Sie kann auf das wärmste empfohlen werden.

Zum Verhalten des Urotropins und Formaldehyds im Organismus.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 30. Januar 1918.)

Nach einer vielfach verbreiteten Annahme enthält der nach Einführung bzw. Gebrauch von Urotropin (Hexamethylentetramin) entleerte Harn Formaldehyd in mehr oder minder großer Quantität, ein positiver Widerspruch gegen diese Angaben ist mir nicht bekannt geworden. Auf die Formaldehydbildung wird ja auch die therapeutische Wirksamkeit des Urotropins bei Erkrankungen der Harnorgane zurückgeführt. Man würde demnach in der Verabreichung von Urotropin ein sehr bequemes Mittel haben, um Fernwirkungen des Formaldehyds im Organismus, wenn er solche hat, auszulösen — ein Mittel, das um so mehr zu schätzen wäre, als der Formaldehyd selbst bekanntlich Eigenschaften hat, die seine direkte Verwendung, auch in Verdünnungen, wenig geeignet erscheinen lassen.

Mit der Annahme eines Formaldehydgehaltes des nach Urotropingebrauch entleerten Harns stehen nun die Erfahrungen über das Verhalten des Formaldehyds selbst nach Einführung, sei es per os oder — bei Tieren — direkt in die Blutbahn, in Widerspruch.

Schon vor längerer Zeit habe ich konstatiert, daß in dem Harn eines Kaninchens, das 1 ccm Formalin, stark verdünnt, mit der Schlundsonde in den Magen bekommen hatte, durch Destillieren nach dem Ansäuern kein Formaldehyd nach-

weisbar war[1]). Das sauer reagierende Destillat reduzierte zugesetzte Silbernitratlösung beim Erhitzen, dagegen nicht, wenn es vorher ammoniakalisch gemacht war, entsprechend dem Verhalten der Ameisensäure, während sich Formaldehyd genau umgekehrt verhält.

Für den Hund habe ich[2]) vor einiger Zeit auf colorimetrischem Wege nachgewiesen, daß auch bei ihm nach Zufuhr sehr erheblicher Mengen von Formalin nur äußerst wenig Formaldehyd im Harn erscheint. Der betreffende Hund von etwa 12 kg Körpergewicht hatte im Laufe von 5 Tagen rund 1,384 g Formaldehyd mit dem Futter erhalten und davon nur 0,0085 g = 0,61 % ausgeschieden.

Schon einige Zeit vorher hat Fr. Simon[3]) in seiner Arbeit: „Über das Verhalten des formaldehydschwefligsauren Natriums im Organismus“ auch einige Versuche über das Verhalten des Formaldehyds selbst mitgeteilt. Dabei ergab sich folgendes: Nach intravenöser Einführung von 0,089 g pro Kilogramm Körpergewicht beim Kaninchen war im Blute des fast unmittelbar nach der Injektion gestorbenen Tieres allerdings Formaldehyd deutlich nachweisbar, er wurde jedoch vermißt, wenn eine kleinere Dosis — 0,048 g pro Kilogramm — verabreicht wurde und das Tier die Einspritzung auch nur 7 Minuten lang überlebte. Auch in weit größerer Menge — 0,25 g pro Kilogramm — gegebener Formaldehyd war 24 Stunden später aus dem Blut spurlos verschwunden[4]).

Bezüglich des Überganges von Formaldehyd in den Harn nach Einführung beim Menschen äußern sich Brugsch und Rheinboldt[5]) im verneinenden Sinne.

---

[1]) Nicht veröffentlicht. — Bei späteren Versuchen konnten durch Anwendung schärferer Reaktionen öfters Spuren von Formaldehyd nachgewiesen werden.

[2]) Diese Zeitschr. **71**, 382, 1915.

[3]) Diese Zeitschr. **65**, 87, 1915.

[4]) Auf die Ursachen des Verschwindens, die sehr mannigfaltige sein können — vor allem kommt wohl die von Pohl in der Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **31**, 30, 1893 nachgewiesene Oxydation zu Ameisensäure und weiterhin zu Kohlensäure und Wasser in Betracht — soll hier nicht eingegangen werden.

[5]) Zitiert nach Abelin, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **75**, 319, 1914.

Angesichts des Verschwindens oder fast völligen Verschwindens des Formaldehyds im Organismus nach Einführung desselben ist die Angabe, daß er nach Urotropingebrauch im Harn auftritt, äußerst auffallend, und man muß sich naturgemäß die Frage vorlegen, ob das zum Nachweis des Formaldehyds angewendete Verfahren für diesen beweisend gewesen ist. Soviel ich sehen kann, ist mit Ausnahme eines Falles, auf den ich gleich zurückkomme, zur Isolierung des Formaldehyds die Destillation des angesäuerten Harns angewendet worden. Mir ist, wie gesagt, nur ein Fall in der Literatur bekannt, in dem der Nachweis direkt im Harn ohne vorgängige Destillation geführt ist. Abelin fand (l. c. 319), daß der am besten eine halbe Stunde, spätestens 3 bis 4 Stunden nach der Injektion von Neosalvarsan (formaldehydsulfoxylsaure Natriumverbindung des Salvarsans) gelassene Harn direkt die Schrywersche Reaktion gibt. Da das Neosalvarsan selbst diese Reaktion gibt, so läßt dieser Befund in Anbetracht der kleinen Menge des mit dem Neosalvarsan eingeführten Formaldehyds — nach Abelin etwa 0,07 g — indessen doch Zweifel aufkommen, ob in diesem Falle die Reaktion nicht von unzersetzt in den Harn übergegangenem Neosalvarsan herrühren könnte[1]). Abelin selbst spricht sich gegen diese Annahme aus, jedoch ist seine Beweisführung, die sich namentlich auf die Widerstandsfähigkeit des betreffenden Harns gegen das Eintreten der ammoniakalischen Harngärung gründet, meines Erachtens nicht ganz überzeugend.

Abgesehen von diesem Fall ist zur Isolierung des Formaldehyds wohl stets die Destillation des angesäuerten Harns angewendet worden, und daß dabei aus dem Urotropin Formaldehyd in das Destillat übergeht, kann wohl nicht zweifelhaft sein. Zum Überfluß habe ich mich davon noch an wäßrigen Urotropinlösungen überzeugt, wobei gleichzeitig der Einfluß des Ansäuerns festgestellt wurde. Dieser Einfluß läßt sich auch ohne quantitative Bestimmungen durch zwei Reaktionen feststellen, nämlich einerseits durch die bekannte Lebbinsche Reaktion (Rotfärbung beim Kochen mit starker Natronlauge, die

[1]) Abelin läßt übrigens, l. c. 321, die Möglichkeit von „locker gebundenem Formaldehyd“ zu.

5 % Resorcin enthält), andererseits durch die von mir[1]) beschriebene Modifikation der Reaktion von Leach, die ursprünglich für den Nachweis von Formaldehyd in Milch bestimmt war. Diese modifizierte Reaktion, die ich in der Folge der Kürze halber als die meinige bezeichne, ist, trotzdem sie für viele Fälle große Vorzüge hat, augenscheinlich wenig bekannt. Auch Ernst Waser[2]) hat sich bei colorimetrischen Bestimmungen des Formaldehyds mit der Leachschen Milchreaktion beholfen, obwohl sie für diese Zwecke wenig geeignet ist, jedenfalls viel weniger als meine Reaktion. Es sei mir daher gestattet, die Reaktion an dieser Stelle nochmals zu beschreiben.

Man löst in der im Reagensglas befindlichen, auf Formaldehyd zu prüfenden Flüssigkeit eine kleine Spatelspitze Witte-Pepton unter Umschütteln und leichtem Erwärmen auf, setzt 3 bis 4 Tropfen 3 %ige Eisenchloridlösung hinzu, dann das halbe bis gleiche Volumen Salzsäure von 1,19 D und erhitzt zum Sieden: es tritt bald eine allmählich mehr und mehr zunehmende gesättigte Violettfärbung ein, die später mehr in Blaufärbung übergeht. In dieser typischen Weise verläuft die Reaktion bei einer Konzentration von 1 : 25000 bis 1 : 50000, ihre Empfindlichkeit geht jedoch viel weiter, und sie ist vielleicht die empfindlichste von allen Formaldehydreaktionen. Die blaue Färbung hält sich mindestens monatelang ganz unverändert, während die sonst üblichen Farbenreaktionen des Formaldehyds mehr oder weniger vergänglich sind. Man urteile über Eintritt oder Nichteintritt der Reaktion erst nach einigen Minuten und setze, falls sie schwach oder undeutlich ist, das gleiche Volumen Wasser hinzu. Man erhält dann im positiven Falle eine rein violett gefärbte Lösung, während beim Kontrollversuch ohne Formaldehyd die gelbe Färbung bestehen bleibt. Dagegen kann ich den früher gemachten Vorschlag, die Reaktionsmischung in ein größeres Volumen Wasser zu gießen, nicht aufrecht erhalten, da hierbei auch ohne Gegenwart von Formaldehyd eine violett getönte Lösung entstehen kann. Die Reaktion ist wegen ihrer Beständigkeit ganz besonders geeignet zu colorimetrischen Bestimmungen, zu denen ich sie, wie eingangs erwähnt ist,

---

[1]) Diese Zeitschr. 68, 337, 1915.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 99, 82, 1917.

auch schon benutzt habe. Der Farbstoff geht nicht in die üblichen Lösungsmittel für derartige Farbstoffe über, die Reinheit der Färbung scheint beim Schütteln mit Äther noch zuzunehmen, was sich leicht durch den Übergang des Eisenchlorids in den Äther erklärt. Die Reaktion versagt bei irgend stärkerer Konzentration von Formaldehyd, während umgekehrt die Lebbinsche Reaktion etwa bei einer Verdünnung von 1:10000 ihre Grenze findet.

Destilliert man nun von 100 ccm einer etwa $^1/_2\,^0/_0$igen Urotropinlösung 70 ccm ab, so gibt das Destillat meine Reaktion, aber nicht die Lebbinsche, weil für diese der Formaldehydgehalt nicht hoch genug ist. Setzt man aber zu derselben Urotropinlösung tropfenweise unter Umschwenken 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure[1]) und destilliert dann ebenso 70 ccm ab, so gibt nunmehr das Destillat die Lebbinsche Reaktion, aber nicht die meinige, sondern höchstens eine uncharakteristische Rotfärbung, weil für diese der Formaldehydgehalt zu hoch ist. Wendet man eine 1 $^0/_0$ige Lösung an, so gibt das Destillat (ohne Ansäuern) wenigstens andeutungsweise die Lebbinsche Reaktion — dasselbe ergibt die quantitative Bestimmung nach der Jodbindungsmethode. Es erscheint mir überflüssig, auf Einzelheiten in diesem Punkte einzugehen.

Bei mit Urotropin versetztem Harn kann es vorkommen, daß das ohne vorheriges Ansäuern des Harns erhaltene Destillat kein Formaldehyd enthält oder nur äußerst wenig. Das ist dann der Fall, wenn der Harn beim Erhitzen alkalisch wird, und infolgedessen auch das Destillat ammoniakalisch, was mitunter auch bei ziemlich stark saurem Harn vorkommt. Damit steht die Angabe von A. Citron[2]) in Einklang, daß nach Urotropingebrauch in saurem Harn Formaldehyd nachweisbar sei, in alkalisch reagierendem nicht. Bei Harnen, die Urotropin enthalten — und das wird nach Ausweis der Reakion mit Bromwasser nach Nicolaier[3]) — nach Urotropingebrauch wohl

[1]) „Konzentrierte Schwefelsäure", um keine merkliche Volumenszunahme herbeizuführen. In manchen Versuchen wurde auch 5 ccm verdünnte Schwefelsäure angewendet und im Kontrollversuch 5 ccm Wasser.

[2]) A. Citron, Malys Jahresbr. für 1898, 28, 286; dabei nehme ich an, daß der Harn behufs Nachweises destilliert ist.

[3]) Malys Jahresbericht für 1899, 29, 584.

stets der Fall sein, ist zum Nachweis etwaigen Formaldehydgehaltes die Destillation demnach unter allen Umständen zu verwerfen. Es handelte sich also darum, ein Verfahren zu finden, das unter Vermeidung der Destillation den Nachweis von Formaldehyd neben Urotropin entweder direkt oder nach einer bestimmten Vorbereitung gestattet.

In erster Linie war die Frage zu beantworten, ob die gebräuchlichen Reaktionen auf den Harn direkt angewendet werden können und ob Urotropin vielleicht dadurch stört, daß es gleichfalls diese Reaktionen gibt. Wo nichts Besonderes gesagt ist, habe ich bei den Harnuntersuchungen stets einen Harn angewendet, der 0,3 °/₀ Urotropin enthielt — so wird im allgemeinen der Gehalt nach Urotropingebrauch sein — und gleichzeitig 0,02 °/₀₀ Formaldehyd, also $^1/_{150}$ von dem Gehalt an Urotropin und andererseits denselben Harn, nur mit 0,3 °/₀ Urotropin versetzt. Dieses Verhältnis und diese Verdünnung des Formaldehyds schien mir genügend.

1. Die Reaktion nach Bono[1]). Urotropinlösungen von 1 °/₀ bis 1 °/₀₀ geben keine merkliche Blaufärbung oder doch nur eine ganz schwache, schnell vorübergehende, wenn man genau nach Vorschrift verfährt, d. h. nach Zusatz von Phenylhydrazin einen Tropfen einer $^1/_2$ °/₀igen Nitroprussidnatriumlösung hinzusetzt, dann 10 Tropfen 10 °/₀iger Natronlauge. Der urotropinhaltige Harn verhält sich ebenso, danach könnte man annehmen, daß diese Reaktion geeignet sei. Sie ist es aber nicht, denn in dem formaldehydhaltigen Harn tritt sie auch nur sehr schwach ein. In meiner Arbeit „Zur Kenntnis einiger Formaldehydreaktionen“[2]) habe ich angegeben, daß die Reaktion nach Bono weit stärker ausfällt, wenn man statt eines Tropfens $^1/_2$ °/₀iger Nitroprussidnatriumlösung deren 10 nimmt oder 1 Tropfen einer 5 °/₀igen Lösung. Unter diesen Umständen geben Urotropinlösungen mit dem angegebenen Gehalt gleichfalls eine Blaufärbung. Man sollte nun annehmen, daß die Reaktion in dieser Form zum Nachweis von Formaldehyd neben Urotropin ungeeignet sei. Das ist aber nicht ganz der Fall. Die Färbung des formaldehydhaltigen Harns ist bei dieser Modifikation entschieden stärker als beim

[1]) Vgl. Fr. Simon, diese Zeitschr. 65, 86. Daselbst auch die Reaktion nach Rimini.

[2]) Diese Zeitschr. 68, 345.

Kontrollharn und verschwindet auch langsamer; in beiden Fällen nimmt die beim Stehen entfärbte Harnlösung von obenher Rotfärbung an, beim formaldehydhaltigen schneller und ausgeprägter als beim formaldehydfreien. Man kann also die Harne unterscheiden, es liegt indessen auf der Hand, daß in praxi dieses Verfahren wenig brauchbar wäre, da es immer einen mit Urotropin versetzten Harn zur Kontrolle erfordern würde. Immerhin aber kann man gelegentlich nebenher von der Reaktion in dieser Form Gebrauch machen.

Nebenher möchte ich bemerken, daß vor der Anwendung einer beliebig konzentrierten Nitroprussidnatriumlösung und namentlich einer irgend erheblichen Quantität, etwa bis zur deutlichen Gelbfärbung, wie bei der Reaktion auf Kreatinin, zu warnen ist. Eine schwache Phenylhydrazinlösung allein gibt nämlich unter diesen Umständen eine mehr oder weniger starke Rotfärbung. Die Intensität der Färbung hängt von der Menge des zugesetzten Nitroprussidnatriums ab, davon kann man sich leicht überzeugen, wenn man die Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin in 2 Teile teilt und eine ungleiche Menge Nitroprussidnatrium hinzusetzt. Die Färbung ist sehr haltbar und nimmt beim Stehen bis zum nächsten Tage zu, meistens unter Bildung eines roten Niederschlages. Der Farbstoff geht nicht in die üblichen Lösungsmittel über. Säuert man die fertige Reaktionsmischung mit Salzsäure an und erwärmt etwas, so wird sie schmutzig-blau, und Amylalkohol nimmt nunmehr einen prächtig violetten Farbstoff auf, während sich gleichzeitig etwas Berlinerblau ausscheidet.

2. Die Reaktion nach Rimini. Zusatz von salzsaurem Phenylhydrazin. Eisenchlorid, konzentrierte Salzsäure. Eine genaue Vorschrift scheint nicht bekannt zu sein. Bei Urotropinlösungen von dem angegebenen Gehalt fällt die Reaktion positiv aus, bei den beiden Harnlösungen, d. h. der nur urotropinhaltigen und der gleichzeitig Formaldehyd enthaltenden, ist die Rotfärbung ziemlich dieselbe.

3. Reaktion nach Schrywer. Phenylhydrazin, Ferricyankaliumlösung, Salzsäure oder Natronlauge: in beiden Fällen Rotfärbung. Die Reaktion fällt mit Urotropinlösungen von dem angegebenen Gehalt positiv aus. Die beiden Harnlösungen sind mittels dieser Reaktion nicht voneinander zu unterscheiden. Nicolaier[1]) verwirft die beiden Reaktionen am Harn direkt

---

[1]) Malys Jahresber. für 1905, 25, 676.

gleichfalls mit der Begründung, daß dadurch auch „gebundener Formaldehyd“ angezeigt wird.

Abelin gibt für die Schrywersche Reaktion, die er als von Arnold und Mentzel herrührend bezeichnet — die Benennungen der Reaktionen sind, wie ich gelegentlich schon bemerkt habe, nicht einheitlich, so nennt auch Waser (l. c.) die Leachsche Reaktion Hehnersche — an, daß Äther beim Schütteln einen gelben Farbstoff aufnimmt. „Wird der Äther abgehebert und wieder mit konzentrierter Salzsäure versetzt, so färbt er sich rot.“ Gegen diese Angabe habe ich nur einzuwenden, daß, korrekter ausgedrückt, nicht der Äther sich rot färbt, sondern die Salzsäure, und zwar leuchtend rot. Nach Abelin läßt sich durch die Anwendung von Äther und Salzsäure der Nachweis bedeutend verfeinern. Auch Essigäther nimmt einen gelben Farbstoff auf, Chloroform färbt sich dunkelgelb, Amylalkohol orange. Das Verhalten zu Salzsäure ist dasselbe. Derselbe Farbstoff wird auch aus der unter Anwendung von Natronlauge hergestellten Reaktionsmischung aufgenommen.

4. Meine Reaktion fällt in Urotropinlösungen positiv aus.

Was die Ursache des positiven Verhaltens des Urotropins gegen die Formaldehyd-Reagenzien betrifft, so beruht sie wahrscheinlich auf der Abspaltung von Formaldehyd durch die starke Säure oder Lauge, nur für die Bonosche Reaktion ist diese Erklärung unwahrscheinlich.

Wesentlich anders liegt die Sache für die Lebbinsche Reaktion. Sie tritt in 3%igen Urotropinlösungen nicht ein, ebenso nicht im Harn mit 0,3% Urotropin, aber auch nicht in dem gleichzeitig 0,02‰ Formaldehyd enthaltenden, augenscheinlich wegen der Abspaltung von Ammoniak aus Urotropin bzw. Harnbestandteilen und Bindung des Formaldehyds durch dieses.

Mehr Aussicht auf Erfolg schien die Anwendung der fuchsinschwefligen Säure in Form der Grosse-Bohleschen Lösung zu bieten, auf die besonders H. Fincke[1]) als bequemes Mittel

[1]) H. Fincke, diese Zeitschrift 52, 219. Die Vorschrift zur Herstellung der genannten Lösung ist folgende: „1 g essigsaures oder salzsaures Rosanilin wird in etwa 500 ccm Wasser gelöst, eine Lösung von 25 g Natriumsulfit (sekundäres Salz $Na_2SO_3 + 2H_2O$) und 15 ccm Salzsäure von 1,125 D hinzugesetzt. Alsdann füllt man auf 1 Liter auf. Die sich langsam entfärbende Flüssigkeit ist nach einigen Stunden gebrauchsfertig und bei Aufbewahrung in verschlossenen Gefäßen lange haltbar.“ Die Anwendung der fuchsinschwefligen Säure zur Erkennung von Aldehyden überhaupt in annähernd neutralen Lösungen ist lange bekannt, die spezielle Anwendung zum Nachweis von Formaldehyd unter An-

zur Erkennung von Formaldehyd hingewiesen hat, da bei dieser nur wenig Salzsäure angewendet wird, eine Abspaltung von Formaldehyd während der Beobachtung also nicht zu befürchten ist.

Versetzt man 8 bis 10 ccm eines Harns, der 0,02 ‰ Formaldehyd enthält, mit etwa 2 ccm der Grosse-Bohleschen Lösung, so entsteht sehr bald eine Rosafärbung, die sich allmählich innerhalb einiger Minuten zu einer gesättigten Purpurfärbung verstärkt. Fügt man jetzt, wenn die Intensität der Färbung anscheinend nicht weiter zunimmt, 1 bis 2 ccm Salzsäure von 1,125 D hinzu, so ändert sich die Farbe mehr nach blau hin (oder richtiger gesagt: die Lösung wird dichroitisch, in durchfallendem Licht rot, in auffallendem fast blau, das gibt sich besonders beim Schütteln zu erkennen) bleibt jedoch so längere Zeit unverändert, ein starker Salzsäurezusatz hebt die Färbung auf. Auch normaler Harn verhält sich nicht ganz refraktär[1]: er färbt sich rötlich, die Färbung verschwindet jedoch schnell bei Salzsäurezusatz, resp. sie macht einer leichten grünlichblauen Platz. Wie verhält sich nun urotropinhaltiger Harn? Mit Urotropin in dem Verhältnis von 1 bis 3 ‰ versetzter Harn gibt mit der Grosse-Bohleschen Lösung gleichfalls eine sich allmählich verstärkende Rotfärbung, diese verschwindet freilich bei Zusatz von Salzsäure weit schneller als in dem formaldehydhaltigen Harn, immerhin ist dieser Unterschied nicht so eklatant, daß man ihn zur Unterscheidung der beiden früher erwähnten Harnmischungen mit Sicherheit benutzen könnte, wenigstens bedürfte es auch hier stets eines Kontrollversuches mit nur Urotropin enthaltendem Harn.

Als Gesamtresultat ergibt sich also, daß keine der besprochenen Reaktionen im Harn direkt eine sichere Erkennung von kleinen Mengen Formaldehyd in urotropinhaltigem Harn ermöglicht.

Es lag nun nahe, eine vorgängige Trennung des Formal-

---

wendung, von Schwefelsäure oder Salzsäure rührt von Denigès und Grosse-Bohle her.

[1]) Nach H. Fincke (diese Zeitschr. **51**, 260) tritt Rotfärbung auch mit dem Filtrat einer Aufschwemmung von kohlensaurem Kalk, ja selbst mit Leitungswasser ein; die Angaben bezüglich des Leitungswassers kann ich bestätigen.

dehyds vom Urotropin zu versuchen. In seiner öfters zitierten Arbeit hat Fr. Simon zur Abtrennung von Formaldehyd aus Blut, das formaldehydschwefligsaures Na enthielt, mit Erfolg Ausschütteln des mit Essigsäure angesäuerten Blutes mit Äther angewendet. Der Äther nimmt Formaldehyd auf und gibt es beim Schütteln mit Wasser an dieses ab, während formaldehydschwefligsaures Na nicht in den Äther übergeht. Das Schüttelwasser gab die Reaktion nach Rimini; natürlich ist sorgfältigste Trennung des Äthers Bedingung des Verfahrens. Simon konnte so 0,01255 Formaldehyd neben 0,3 g formaldehydschwefligsaurem Na in 25 ccm Blut mit Bestimmtheit nachweisen. Daraufhin wandte ich dasselbe Verfahren an urotropinhaltigem Harn an; der Erfolg war ein negativer, d. h. das Ätherwasser gab bald mehr, bald weniger deutlich Formaldehydreaktionen, vielleicht wegen Aufnahme von Urotropin. Zur Kontrolle wurde der angewendete Äther für sich mit Wasser geschüttelt. Es ergab sich zunächst, daß das Ätherwasser Acetaldehyd enthielt (Reduktion von mit Natronlauge versetzter ammoniakalischer Silberlösung, Trübung mit Anilinwasser, blaue Färbung mit Nitroprussidnatrium + Diäthylamin), es erwies sich aber auch Formaldehydreaktionen gegenüber nicht ganz negativ, namentlich die Reaktion von Schrywer unter Anwendung von Natronlauge war schwach, aber deutlich vorhanden. Der mir zur Verfügung stehende Äther war also nicht so rein, wie der von Simon angewendete, und die Abtrennung des Formaldehyds nicht möglich. Vor diesen Komplikationen ist man geschützt, wenn man zum Ausschütteln andere Lösungsmittel z. B. Tetrachlorkohlenstoff verwendet, allein bei diesem ist die bei jedem Versuch zweimal auftretende Emulsionsbildung so lästig, daß ich von weiteren Versuchen Abstand nahm.

Bei dieser ungünstigen Sachlage sah ich mich nach weiteren Formaldehydreaktionen um.

Vielfach angewendet wird bekanntlich die Reaktion mit Morphin in schwefelsaurer Lösung. In Erinnerung hatte ich dabei, daß die Reaktion mit konzentrierter Schwefelsäure ausgeführt wird in Form einer Schichtprobe oder, wie man jetzt öfters sagt, als Zonenreaktion. In dieser Form ist natürlich die Reaktion für den Harn ausgeschlossen, da dieser bei Schichtung mit Schwefelsäure an sich schon oft violette Färbung gibt. Zu meiner Überraschung fand ich nun in Beilstein 3. Auflage,

Ergänzungsband I, S. 465, folgende Angaben: „Eine Lösung eines Kryställchens Morphinchlorhydrat in 12 Tropfen verdünnter Schwefelsäure (1 : 6) nimmt beim Eintauchen eines mit ganz verdünnter Formaldehydlösung befeuchteten Glasstabes Purpurfärbung an, die in Indigoblau übergeht (Jorissen, Chem. Centralbl. 1898, II, 687)."

Trotz vieler Bemühungen gelang mir die Reaktion mit der angegebenen verdünnten Schwefelsäure durchaus nicht, während sie mit konzentrierter Schwefelsäure eintrat.

An der zitierten Stelle im Chem. Centralbl. fand ich folgenden Wortlaut:

„Man gibt in ein Porzellanschälchen ein Kryställchen Morphinchlorhydrat und 12 Tropfen konzentrierte H_2SO_4 und taucht in die farblose Lösung einen befeuchteten Glasstab mit einer Spur HCOH: es entsteht eine prachtvolle Purpurfärbung, die in Indigoblau übergeht. Noch empfindlicher wird diese Reaktion, wenn man statt konzentrierter Schwefelsäure eine 1 + 6 verdünnte Schwefelsäure benutzt."

Hier wird also im Gegensatz zu den Angaben im Beilstein zunächst die Reaktion mit konzentrierter Schwefelsäure angeführt, mit verdünnter Schwefelsäure ist sie mir, wie gesagt, nicht gelungen, und damit entfällt die Anwendung beim Harn.

Eine allgemeinere Aldehydreaktion ist bekanntlich die milchige Trübung, die bei Zusatz von Anilinwasser entsteht. Urotropin in wäßrigen Lösungen gibt sie nicht, sie ist aber für Formaldehyd nicht empfindlich genug. In wäßriger Lösung von Formaldehyd 1 : 1000 tritt sie allmählich ein (versagt bei stärkerer Verdünnung), im Harn bei derselben Konzentration dagegen nicht.

Für den vorliegenden Fall brauchbar fand ich endlich im Chem. Centralbl. 1898, 1, 637 eine mir bisher unbekannt gebliebene Reaktion von Jorissen mit Phloroglucin in alkalischer Lösung[1]). Die von mir benutzte Lösung enthielt 4 g Phloroglucin in 100 ccm Natronlauge von etwa 15 % NaOH. Die Reaktion zeigt manches Eigentümliche, so daß ich sie genauer beschreiben muß.

Versetzt man 8 bis 10 ccm einer Formaldehydlösung von ca. 0,2 bis 0,3 ‰ mit 1 ccm des Reagens, so entsteht eine ausgesprochene Rotfärbung, die allmählich verschwindet und einer uncharakteristischen schwachen Gelbfärbung Platz macht. Bei einer Lösung von 0,1 ‰ färbt sich die Flüssigkeit orangerot, wird aber sehr bald blauviolett. Eine Lösung von 0,01 ‰ gibt nur eine sehr schwache Rotfärbung, die sehr schnell in Blauviolett übergeht.

---

[1]) Abelin erwähnt l. c. diese Reaktion, wie ich leider erst nachträglich bemerkte; benutzt hat er sie, wie es scheint, nicht.

Gehört nun diese Blauviolettfärbung mit zur Reaktion? Das ist nicht der Fall, Kontrollversuche mit destilliertem Wasser ergaben vielmehr, daß die Blauviolettfärbung auch bei diesem nach Zusatz von 1 ccm der alkalischen Phloroglucinlösung auftritt, es handelt sich vielmehr um eine Farbstoffbildung durch spontane Oxydation.

Läßt man die erhaltenen Lösungen stehn, so findet man sie am nächsten Tage entfärbt, die obere Schicht indessen blauviolett gefärbt. Es hat also in den unteren Schichten eine Reduktion stattgefunden, während sie in den oberen Schichten durch den Luftsauerstoff verhindert ist.

Sehr viel schneller und intensiver läßt sich die Blaufärbung hervorrufen, wenn man dem destillierten Wasser vor oder nach dem Zusatz der alkalischen Phloroglucinlösung ein wenig Wasserstoffsuperoxyd (3 %iges) hinzusetzt, ganz besonders beim Erwärmen. Dann aber macht sich auch bald Oxydation des Farbstoffs geltend, die zu definitiver Entfärbung führt. Zufügung von Natronlauge befördert sowohl die Entstehung des Farbstoffs durch H_2O_2 als auch die folgende endgültige Zerstörung.

Zur Charakterisierung des Farbstoffs führe ich noch folgendes an: Er verschwindet beim Ansäuern, kehrt beim Alkalisieren wieder und geht nicht in die üblichen Lösungsmittel über. Digeriert man die ohne Anwendung von H_2O_2 erhaltene Farblösung mit Aluminiumpulver oder Zinkpulver (Natriumamalgam stand mir gerade nicht zur Verfügung), so wird sie durch Reduktion entfärbt: schon beim Abfiltrieren macht sich schwache Färbung bemerkbar, die beim Zusatz von H_2O_2 zum Filtrat in Blauviolett übergeht.

Frisch hergestellte Lösungen von Urotropin von 1 % und 0,3 % verhalten sich ganz negativ, d. h. ebenso wie destilliertes Wasser.

Die Angaben in der Literatur über die Empfindlichkeitsgrenze stimmen mit meinen Beobachtungen nicht überein. In Malys Jahresber. f. 1899. 29, 229, heißt es darüber (ich führe die Stelle wörtlich an, da die Deutung derselben etwas zweifelhaft ist):

„L. Vanino, Über den Nachweis von Formaldehyd, Pharma-

zeut. Centr.-Halle 40, 101—102. Phloroglucin gibt nach Jorissen noch mit $^1/_{2000}$ Formalin deutliche Rotfärbung. Beim Nachweis in Milch gibt man zu 8 bis 10 ccm Milch 1 bis 2 ccm einer 0,1 $^0/_0$ igen Phloroglucinlösung und einige Tropfen Lauge. Die Reaktion tritt nur bei Verdünnungen ein, in stärkeren Lösungen kommt sie gar nicht zustande; in 3 $^0/_0$ iger Lösung zeigt sich himbeerrote Färbung, bei 0,00004 bis 0,5 $^0/_0$ die stärkste Färbung, 0,000004 Formaldehyd gibt noch sichtbare Rötung." Wie man sieht, ist die Ausführungsform der Reaktion bei Vanino eine von der meinigen etwas abweichende. Diese Ausführungsform, bei der die Phloroglucinlösung übrigens nicht genau abgemessen zu werden braucht — ich will sie in der Folge der Kürze halber als die Jorissen-Vaninosche bezeichnen — hat vor der meinigen mit konzentrierter Phloroglucinlösung entschieden große Vorzüge. Zu einer nachträglichen Blaufärbung kommt es bei ihr wegen der geringeren Quantität des Phloroglucins nicht oder nur ganz andeutungsweise. Infolgedessen ist sie bei sehr schwachen Formaldehydlösungen entschieden empfindlicher und sicherer, auch für den Fall, daß man die Reaktion mit der stärkeren Phloroglucinlösung als Schichtprobe anstellt, indem man diese im Reagensglas aus der Pipette langsam herabfließen läßt, was bei schwachen Formaldehydlösungen vorzuziehen ist. Schon bei einer Konzentration von 1 : 50000 macht sich an der Berührungsstelle keine rein rote, sondern mehr purpurne Färbung bemerkbar, die nicht beweisend ist. Auch der weit geringere Verbrauch von Phloroglucin kommt in Betracht. Die von Vanino angegebene Empfindlichkeit habe ich allerdings nicht erreicht, sondern nur etwa $^1/_{10}$ derselben. Man kann die Reaktion von Jorissen-Vanino auch umgekehrt anstellen, zuerst Natronlauge hinzusetzen und dann die Phloroglucinlösung.

Im Harn kann die Reaktion, wenn derselbe nicht abnorm stark gefärbt ist, ohne Vorbereitung angestellt werden. Sie fällt bei Harn mit einem Gehalt von 0,3 $^0/_0$ Urotropin mit Sicherheit negativ aus, bei einem solchen, der außerdem 0,02 $^0/_{00}$ Formaldehyd enthält, mit Sicherheit positiv, so daß die Anstellung einer Kontrollprobe mit urotropinhaltigem Harn, wie bei der Reaktion nach Bono, nicht erforderlich ist. Stark gefärbte Harne kann man durch Blutkohle entfärben, Formal-

dehyd wird durch die Kohle bei kurzem Zusammenstehen nicht merklich absorbiert.

Eine Komplikation kann verursacht werden durch den nicht seltenen Gehalt des Harns an Chrysophansäure oder nahestehenden Derivaten nach dem Gebrauch von Rheum und anderen Abführmitteln, da bei diesen bekanntlich Natronlauge eine Rotfärbung des Harns bewirkt. Man tut daher gut, eine Gegenprobe mit Natronlauge allein anzustellen, um auf alle Fälle vor einer Täuschung durch Chrysophansäure gesichert zu sein. Stellt sich bei Natronlaugezusatz eine Rotfärbung ein, so braucht man nur 20 bis 25 ccm Harn mit Natronlauge versetzt einige Minuten stehen zu lassen und zu filtrieren: der Farbstoff wird durch den Niederschlag von Erdphosphaten zum größten Teil gebunden. Immerhin ist das Filtrat noch etwas rötlich gefärbt, es empfiehlt sich daher, zur Kontrolle eine Probe des Filtrats ohne Zusatz von Phloroglucinlösung zu lassen. Wenn die Entfärbung nicht genügend erscheint, kann man zur besseren Entfärbung den Harn mit etwas Natriumphosphat und Chlorcalcium und dann erst mit Natronlauge versetzen, auch die Anwendung von Blutkohle scheint förderlich zu sein. Man kann auch den Harn mit Bleiessig fällen und zu dem Filtrat so viel Natronlauge setzen, daß das anfangs ausfallende Bleihydroxyd sich auflöst.

Während nun das Ziel erreicht und durch eine große Zahl von übereinstimmenden Einzelversuchen gesichert zu sein schien, machte sich eine Komplikation geltend. Harne, die nur mit 0,3% Urotropin versetzt waren und sich bestimmt negativ verhalten hatten, gaben am nächsten Tage mit der angegebenen Lösung von Phloroglucin in Natronlauge, also in der weniger empfindlichen Form der Probe, geprüft, eine zweifellos positive Reaktion, es war also von einem Tage zum anderen zu einer Abspaltung von Formaldehyd gekommen, während reine Urotropinlösungen sich einige Tage unverändert hielten.

Als Ursache dieser Erscheinung war offenbar an erster Stelle an den Gehalt des Harns an NaH_2PO_4 oder KH_2PO_4 zu denken. Zur Prüfung dieser Annahme wurde 1 g Urotropin in 200 ccm Wasser gelöst, die Lösung in 2 Teile geteilt, der eine Teil blieb ohne Zusatz, in 100 ccm des anderen Teils wurden 0,5 g feingepulvertes KH_2PO_4 durch Schütteln (im Glas-

stöpselgefäß) gelöst. Die Reaktion mit der alkalischen Phloroglucinlösung war gleich nach der Herstellung negativ, am nächsten Tage jedoch positiv, während die Urotropinlösung selbst sich unverändert zeigte und so auch einige Tage blieb. Andere Harnsalze wie 1 g NaCl und 1 g $Na_2SO_4 + 12\,H_2O$ hatten keine Wirkung, das Urotropin blieb unverändert.

Daß das wirksame Moment die saure Reaktion ist, ergaben auch Versuche mit Essigsäure. Es genügte der Zusatz eines einzigen Tropfens Essigsäure (D. A. B. 5), um in einer 0,5 %-igen Urotropinlösung bei Zimmertemperatur in 24 Stunden eine solche Abspaltung von Formaldehyd herbeizuführen, daß die Reaktion mit der alkalischen Phloroglucinlösung stark positiv ausfiel. Da der Gehalt der officinellen Essigsäure an $C_2H_4O_2$ 30 % beträgt und auf einen Kubikzentimeter der gebrauchten Pipette 43 Tropfen[1]) gehen, so entspricht der genannte Zusatz einem Gehalt der Flüssigkeit an $C_2H_4O_2$ von ungefähr 0,07 %. Selbstverständlich wird diese Formaldehydbildung bei saurer Reaktion des Harns auch in der Blase vor sich gehen, ja vermutlich fortdauernd während der Sekretion. Wörtlich genommen ist also die Angabe, daß der nach Urotropingebrauch entleerte Harn, sofern er sauer reagiert, Formaldehyd enthalte, wohl richtig, keineswegs aber folgt daraus die Richtigkeit der vielfach gemachten Annahme, daß die therapeutische Wirkung des Urotropins bei Erkrankungen des Harnapparates auf der desinfizierenden Wirkung des abgespaltenen Formaldehyds beruht, denn die Quantität des in den obigen Versuchen abgespaltenen Formaldehyds ist immer nur sehr gering, es handelt sich durchweg nur um Spuren.

Nachdem mir die empfindlichere Ausführungsform der Phloroglucin-Reaktion von Vanino bekannt geworden war, schien es mir nötig, mit dieser das Verhalten rein wäßriger Urotropinlösungen von 0,3 bis 0,5 % nochmals zu prüfen. Es ergab sich, daß auch in solchen ausnahmslos schon nach einem Tage Spuren von Formaldehyd nachzuweisen waren, mindestens andeutungsweise, während die Probe mit der früher gebrauchten alkalischen Phloroglucinlösung stets negativ ausfiel.

---

[1]) Die Tropfenzahl hängt in beträchtlichem Grade davon ab, wie man die Pipette hält: bei möglichst senkrechter Haltung der Pipette betrug die Tropfenzahl 53.

Hat nun vielleicht der Zusatz von Alkali eine schützende Wirkung? Das ergab sich in der Tat. Bei einem Gehalt einer 0,3- bis 0,5 $^0/_0$igen Lösung von Urotropin an Na_2CO_3 von 0,1 bis 1 $^0/_0$ trat im Laufe von 8 Tagen nicht die geringste Formaldehydabspaltung ein. Zum Überfluß überzeugte ich mich noch, daß ein Gehalt an Na_2CO_3 die Reaktion nicht stört. Dasselbe ergab sich auch für einen Gehalt an NaOH, und zwar war die schützende Wirkung bei einem Zusatz von 10 ccm einer $^n/_{10}$-Normallauge zu 100 ccm absolut, während in der nur 1 ccm $^1/_{10}$ Lauge = 0,004 $^0/_0$ enthaltenden Lösung Spuren von Formaldehyd nachweisbar waren. Die parallel damit und mit der Na_2CO_3 enthaltenden angesetzte Lösung von Urotropin ohne Zusatz gab schon am nächsten Tage recht merkliche positive Reaktion, die fortdauernd zunahm.

Obwohl die früheren Versuche zum größten Teil mit der weniger empfindlichen Form der Reaktion von Jorissen angestellt sind, halte ich sie nicht für verloren. Sie haben insofern Wert, als mit derselben festzustellen ist, ob eine Abspaltung von Formaldehyd innerhalb der äußersten minimalen Grenzen geblieben ist oder diese überschritten hat. Tatsächlich ist durch Anwendung beider Verfahren festgestellt worden, daß die Bildung von Formaldehyd in einer wäßrigen Lösung etwa innerhalb einer Woche die äußerste Grenze nicht überschreitet und daß in mit Natriumcarbonat oder Natronlauge schwach alkalisierten Lösung eine solche innerhalb dieser Zeit überhaupt nicht eintritt, wenn die Alkalescenz nicht gar zu gering ist.

Für die Prüfung des Harns auf Formaldehyd empfehle ich schließlich folgendes Verfahren: Zu 8 bis 10 ccm Harn setzt man etwa $^1/_{10}$ des Volums Natronlauge von etwa 15 $^0/_0$ NaOH. Tritt dabei keine Rotfärbung ein, so setzt man 1 bis 2 ccm einer 0,1 $^0/_0$igen Phloroglucinlösung hinzu, tritt dagegen auf Zusatz von Natronlauge allein schon eine Rotfärbung auf, so behandelt man etwa 25 ccm Harn in der oben angegebenen Weise.

Die Empfindlichkeit ist eine sehr weitgehende und übersteigt jedenfalls das praktische Bedürfnis. Zu 100 ccm Harn wurde 1 ccm seiner Lösung von 1 $^0/_{00}$ Formaldehyd (nicht Formalin) hinzugesetzt. Das ist also eine Verdünnung von 1:100000.

Es trat noch eine ganz unzweifelhafte Rotfärbung ein. Wahrscheinlich wird die Jorissen-Vaninosche Reaktion mit den nötigen vorbereitenden Operationen auch in anderen Körperflüssigkeiten resp. Darmentleerungen anwendbar sein.

Beiläufig bemerkt bedarf es zum Nachweis eines Urotropingehaltes im Harn nicht der umständlichen Destillation. Man kann vielmehr das Urotropin im Harn selbst außer durch Bromwasser[1]) mittels der beschriebenen Reaktion mit Witte-Pepton, Salzsäure und Eisenchlorid unter Erhitzen nachweisen. Dabei ist indessen folgendes zu bemerken.

Wie erwähnt, versagt diese Reaktion auf Formaldehyd, oder wird wenigstens uncharakteristisch bei zu großer Konzentration von Formaldehyd. Das kann auch beim Urotropin der Fall sein. Stellt man die Reaktion mit 1 %iger Harn-Urotropinlösung an, so entsteht zwar anfangs eine violette Färbung, namentlich des Schaums, sehr bald aber wird die Mischung rot und erscheint auch bei Zusatz des gleichen Volumens Wasser in durchfallendem Licht rein rot, also uncharakteristisch. Daran ist aber nicht allein die zu große Konzentration des Urotropins schuld, sondern auch irgendwelche Harnbestandteile wirken störend. Versetzt man nämlich die genannte Harn-Urotropinlösung mit dem 4fachen Volumen Harn, so sind die Erscheinungen bei Anstellung der Reaktion ganz ähnlich denen bei der konzentrierten Harnlösung: auch jetzt erscheint die fertige Reaktion nach dem Zusatz des gleichen Volumens Wasser nicht violett oder blau, sondern im durchfallenden Licht rot. Mischt man dagegen die 1 %ige Harn-Urotropinlösung mit dem 4fachen Volumen Wasser und stellt mit dieser Mischung die Reaktion an, so erscheint die Reaktionsmischung nach dem Zusatz des gleichen Volumens Wasser rein violett. Am nächsten Tage erscheinen alle diese Reaktionsmischungen rot, die blaue Färbung ist also nicht wie bei wäßrigen Lösungen haltbar. Für weitere Verdünnungen ergibt sich folgendes: a) 10 ccm des 1 %igen Urotropinharns 90 ccm Harn. Die Reaktionsmischung, anfangs blauviolett, nach dem Zusatz des gleichen Volumens Wasser in

[1]) Die Reaktion mit Bromwasser ist nicht in jedem Falle ganz entscheidend, jedenfalls darf man aus bloßen Trübungen keinen Schluß ziehen, da solche, ja selbst Niederschläge, unter Umständen auch in Harnen auftreten, die kein Urotropin enthalten.

durchfallendem Licht rot. b) 10 ccm der 1 $^0/_0$igen Harnurotropinlösung 90 ccm Wasser. Reaktionsmischung blauviolett, nach dem Verdünnen mit dem gleichen Volumen Wasser rein violett, so auch am nächsten Tage. Daraus ergibt sich die Regel, den Harn vorher stets mit dem mehrfachen bis 10fachen Volumen Wasser zu verdünnen und die farbige Reaktionsmischung, falls der Ausfall irgend zweifelhaft ist, mit dem gleichen Volumen Wasser zu verdünnen. Man braucht nicht zu befürchten, daß die Reaktion vielleicht infolge der Verdünnung zweifelhaft oder negativ ausfallen könnte, da der urotropinhaltige Harn auch bei noch weit stärkerer Verdünnung positive Reaktion gibt. Übrigens ist auch eine stets bei Violettfärbung eintretende Rotfärbung unter diesen Umständen beweisend, da sie bei blinden Versuchen ohne Urotropin nicht eintritt. Man könnte mit Hilfe dieser Reaktion die Ausscheidungsverhältnisse des Urotropins durch den Harn leicht verfolgen, natürlich ohne Rücksicht auf die Frage, ob ein Teil derselben auf präformierten Formaldehyd zu beziehen sei, die im vorliegenden Falle ohne Bedeutung ist. Sie wird sich mutatis mutandis auch für andere Körperflüssigkeiten sowie für Darmentleerungen anwenden lassen.

Es ist klar, daß bei der geschilderten Sachlage die Untersuchung des Harns über die Frage, ob sich innerhalb des Organismus Formaldehyd aus Urotropin bilde und ob sich durch Verabreichung von Urotropin vielleicht eine Fernwirkung des Formaldehyds erzielen lassen könnte, daß über diese Frage die Untersuchung des Harns keinen Aufschluß geben kann.

Fr. Simon hat nun, wie schon erwähnt, in seiner öfters zitierten Arbeit nachgewiesen, daß in die Venen eingeführter Formaldehyd schnell aus dem Blut verschwindet, sei es durch Oxydation zu Ameisensäure bzw. Kohlensäure und Wasser allein, sei es durch Bindung an Eiweiß, Aminosäuren oder sonstwie. Auf eine Fernwirkung des Formaldehyds, mag er direkt eingeführt oder abgespalten sein, ist also unter diesen Umständen schwerlich zu rechnen, dagegen könnte wohl seine desinfizierende Wirkung bei Erkrankung des Darms bzw. von diesem ausgehenden Infektionskrankheiten in Betracht kommen. In dieser Beziehung ist es von Interesse, daß Formaldehydbildung aus eingegebenem Urotropin, und zwar in mehr als Spuren, im Magen mit größter Wahrscheinlichkeit zu erwarten ist. Dafür

spricht das Verhalten des Urotropins zu künstlichem Magensaft bzw. Verdauungssalzsäure.

0,5 g Urotropin wurden in 100 ccm künstlichem Magensaft durch Schütteln ohne Erwärmen aufgelöst. Die Phloroglucin-Reaktion war negativ, nach 2stündigem Verweilen im Thermostaten jedoch stark positiv. Ja, noch mehr! 0,5 g Urotropin wurden in 100 ccm salzsäurehaltiges (0,3 $^0/_0$ HCl) Wasser von 40°, das sich in einem weithalsigen Glasstöpselgefäß befand, eingeschüttet und durch Schütteln gelöst. Die Auflösung erfolgte fast momentan; trotzdem gibt die Lösung Formaldehyd-Reaktion, und zwar ziemlich stark.

Ob im Darmkanal nicht wieder eine Bindung des Formaldehyds stattfindet, bleibt freilich zweifelhaft. Manche dieser Fragen ließen sich wohl durch klinische Untersuchungen oder durch Versuche an Tieren, die ich zur Zeit wegen Mangel an Tiermaterial nicht anstellen kann, aufklären.

Zusammenfassung.

1. Die einzige Probe, die es ermöglicht, kleine Mengen von Formaldehyd neben sehr viel größeren Mengen von Urotropin nachzuweisen, ist die von Jorissen, besonders in der von Vanino angegebenen Form. Für den Harn ist allenfalls auch die Reaktion von Bono brauchbar, aber nur unter Zuziehung einer Vergleichslösung, die nur Urotropin enthält.

2. Urotropinlösung ist nur einige Tage, ja auch so lange nicht absolut, haltbar. Eine 0,1 $^0/_0$ bis 1 $^0/_0$ Natriumcarbonat enthaltende Lösung hält sich länger, jedenfalls eine Woche lang. Minimal angesäuerte oder mit Natronlauge zu schwach alkalisierte Lösungen zersetzen sich partiell schon von einem Tag zum andern.

3. Im Magen ist eine Abspaltung von Formaldehyd aus Urotropin mit größter Wahrscheinlichkeit anzunehmen.

4. Die Untersuchung des Harns nach Einführung von Formaldehyd kann nur Aufschluß darüber geben, ein wie großer Teil unverändert ausgeschieden, ein wie großer zu Ameisensäure oxydiert wird.

5. Die Untersuchung sauer reagierenden Harns auf Formaldehyd nach Einführung von Urotropin ist für die

Frage einer etwaigen Bildung von Formaldehyd im Organismus nicht verwertbar, indirekt könnte die Untersuchung auf Ameisensäuregehalt über die Abspaltung von Formaldehyd Aufschluß geben, jedoch nur nach qualitativer Richtung, jede weitere Schlußfolgerung ist ausgeschlossen, da ein Teil der etwa gebildeten Ameisensäure zu Kohlensäure und Wasser oxydiert wird.

6. Urotropin läßt sich im Harn (außer durch Bromwasser) ohne Destillation direkt durch die Reaktion mit Witte-Pepton, Eisenchlorid und Salzsäure in der beschriebenen Weise nachweisen, natürlich bezieht sich dieser Nachweis auch auf etwa abgespaltenen Formaldehyd.

Über die Verwertbarkeit der Hefe im tierischen Organismus.

Von

Emerich Schill.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Budapest.
Direktor: Weiland Franz Tangl.)

(Eingegangen am 2. Februar 1918.)

Die interessanten Ergebnisse, die Völtz[1]) über die Ausnützung der Hefe im Hundeorganismus erhielt, boten die Veranlassung zu ähnlichen Ausnützungsversuchen an Hunden, die von mir in den Jahren 1908/1909 ausgeführt wurden, äußerer Ursachen halber jedoch erst jetzt veröffentlicht werden sollen. Die Veröffentlichung ist um so mehr geboten, da es sich um ein an Eiweiß besonders reiches Massen-Nebenprodukt der Industrie handelt, dessen Bedeutung unter den aktuellen Verhältnissen nicht genug zu würdigen ist.

Beschreibung und Methodik der Versuche.

Zu den Versuchen wurden nach Falck operierte Hündinnen verwendet, und die Ausnützung der Hefe teils an Tieren untersucht, die sonst keine Nahrung erhielten, teils an solchen, die eine stickstoffhaltige Futtermischung verzehrten, der periodenweise Hefe zugegeben wurde.

Es wurden insgesamt vier Versuchsreihen an vier verschiedenen Tieren ausgeführt.

Versuchsreihe A. Das Tier wurde erst während einer vier Tage währenden Hungerperiode untersucht, dann während der letzten drei

[1]) W. Völtz, Über den Einfluß verschiedener Eiweißkörper und einiger Derivate derselben auf den Stickstoffumsatz usw. Arch. f. d. ges. Physiol. 107, 360, 1905.

Tage einer achttägigen Hefefütterung, und zum Schluß wieder in einer zweitägigen Hungerperiode.

Versuchsreihe B. Das Tier wurde erst im gefütterten Zustande (s. unten), ohne Hefe zu erhalten, untersucht, dann an den drei letzten Tagen einer fünftägigen Fütterungsperiode mit Hefezusatz, und endlich wieder während einer dreitägigen hefefreien Fütterungsperiode.

Versuchsreihe C. Auch dieses Tier wurde erst hefefrei gefüttert, und zwar an zwei aufeinanderfolgenden Perioden von je vier Tagen, dann vier Tage lang bei Hefezusatz und zum Schluß wieder vier Tage lang ohne Hefe.

Versuchsreihe D. Erst kam eine dreitägige Hungerperiode, dann Fütterung mit Hefe während zweier Tage, dann Fütterung während dreier Tage mit spärlichen Mengen Stärke, zum Schluß eine zweitägige Hungerperiode.

Das Füttern der Tiere in den Versuchsreihen B und C bestand aus feingepulvertem Fattingerschen Hundebrot und Schweinefett, die unmittelbar vor der Verfütterung mit ein wenig Salz und einer entsprechenden Menge Wasser gut durcheinander gemischt wurden. Von dem Hundebrot wurde vor Beginn der Versuche eine größere Menge bezogen, pulverisiert und von dem Pulver einerseits die vorher bestimmte Anzahl der zu verfütternden Portionen weggelegt, andererseits entsprechende Mengen zur Bestimmung des N-Gehaltes, des Gehaltes an chemischer Energie usw., abgewogen.

Zu den Hefeversuchen wurde die aus der hierortigen „Spiritusfabrik-A. G. Gschwindt“ bezogene „stärkefreie“ Preßhefe verwendet, die 36,8 bis 39,7 % Eiweiß in der Trockensubstanz enthielt. Die Hefe wurde in einem Teil der Versuche auch innerhalb einer Versuchsreihe gewechselt; ein anderes Mal wurde die für die ganze Versuchsreihe benötigte Menge auf einmal bezogen.

Jede frisch bezogene Hefe wurde sofort der Analyse unterworfen. Zu diesem Behufe wurde die ganze Menge in einem Mörser gut verrieben und ihr erst die vorher bestimmte Anzahl der zu verfütternden Portionen zu je 100 g entnommen (und bis zur Verfütterung am Eis verwahrt), andererseits entsprechende Mengen zur Bestimmung der Trockensubstanz —, N-Gehaltes, des Gehaltes an chemischer Energie usw., abgewogen.

Die zu verfütternde Hefemenge wurde, da die Tiere dieselbe weder allein noch mit dem übrigen Futter vermischt

nehmen wollten, in einem Mörser mit 50 bis 100 ccm Wasser zu einer Emulsion verrieben und den Hunden durch eine Hohlsonde in den Magen eingegossen; Reste, die noch im Mörser haften geblieben waren, wurden mit Wasser nachgespült. In den Versuchsperioden, wo die Tiere nicht Hefe allein erhielten, wurde ihnen das übrige Futter unmittelbar nach der Hefeeingießung gereicht; sie verzehrten es mit sichtlicher Gier in wenigen Minuten. Die Fütterung fand jedesmal zur selben Stunde unmittelbar nach erfolgter Blasenspülung statt.

Die Tiere wurden während der ganzen Versuchsdauer in Stoffwechselkäfigen gehalten, die ein getrenntes, genaues Sammeln von Harn und Kot gestatteten. Der 24stündlich gesammelte Harn wurde mit einem Kryställchen Thymol konserviert. Die Abgrenzung des Harns wurde täglich zur selben Stunde durch Katheterisieren der Blase und nachfolgende Ausspülung mit einer $1^0/_0$igen Lösung von Borsäure vorgenommen.

Zur Abgrenzung des Kotes wurde den Tieren zu Beginn und 5 bis 6 Stunden vor dem Ende je einer Versuchsperiode Kieselsäure in Wasser aufgeschwemmt durch eine Hohlsonde in den Magen eingegossen. Der Kot je einer Versuchsperiode wurde vereint, am Wasserbad getrocknet und in lufttrockenem Zustande analysiert.

Der Stickstoff im Blasenspülwasser wurde selbstverständlich zum Harn-N hinzugerechnet; der N des Käfigspülwassers mußte jedoch zum Kot-N hinzugerechnet werden, weil er offenkundig zum größeren Anteil von den, dem Drahtnetz angetrockneten Resten des oft breiigen Kotes herrührte. Dieser N konnte in der Regel über alle Perioden einer Versuchsreihe gleichmäßig verteilt werden; nur im Versuchsreihe B, in der die Menge des Kotes in den verschiedenen Versuchsperioden eine sehr verschiedene war und relativ viel vom weichbreiigen Stuhl an dem Drahtnetz haften blieb, mußte der Spül-N proportionell dem Kot-N über die einzelnen Perioden verteilt werden.

Der N wurde im Futter sowohl wie in den Entleerungen nach Kjeldahl bestimmt, wobei metallisches Hg als Katalysator diente. Der Gehalt an chemischer Energie wurde in einer modifizierten Berthelot-Mahlerschen Bombe bestimmt. Zur Energiebestimmung im Harn wurden je 10 bis 15 ccm

desselben in mehreren Platinschälchen eingedampft und teils calorimetrisch verbrannt, teils aber zur Bestimmung des N-Verlustes während des Eindampfens verwendet. Für je 1 g verlorenen N wurde nach Rubner eine Korrektion von 5,407 kg-Cal. in Rechnung gestellt.

Ergebnisse der Versuche.

Die Ergebnisse der an der Hefe, am Fattingerschen Hundebrot und am Kot ausgeführten Analysen sind in nachfolgender Tabelle I enthalten, die auf den Harn bezüglichen, sowie alle übrigen Daten in den zu je einer Versuchsreihe gehörigen Tabellen II bis V.

Resorption des Hefe-Eiweißes. Die wichtige Frage, ob und in welchem Ausmaße das Eiweiß der per os eingeführten Hefe resorbiert wird, läßt sich aus den Daten der Tabellen II bis V berechnen, wobei man zu folgendem Ergebnis gelangt. In den Versuchsreihen A und D, in denen die Tiere sonst keine Nahrung erhielten, wird der Hefe-N zu 66 resp. 76 % resorbiert, von dem gefütterten Tier in Versuchsreihe C zu 75 %. Daß in Versuchsreihe B vom ebenfalls gefütterten Tier weniger, etwa 40 % des Hefe-N, resorbiert wurde, läßt sich ungezwungen aus der gesteigerten Darmperistaltik des Tieres erklären, das sehr häufig weichen, beinahe dünnbreiigen Kot entleert hatte. (In Versuchsreihen B und C wurde, wie gewöhnlich, der Zuwachs des Kot-N in der Hefeperiode gegenüber den hefefreien Fütterungstagen als nichtresorbierter Hefe-N angesehen).

Frühere Autoren erhielten für den Verdauungskoeffizienten des Hefeeiweißes in Versuchen, in denen Hefe N-haltiger Nahrung beigemischt wurde, durchwegs höhere Werte;

Völtz[1])	am Hund	83,6 %
Honcamp, Popp u. Volhard[2])	am Hammel	82 bis 86 %
Völtz und Baudrexel[3]) . . .	am Menschen	86 %

[1]) l. c.

[2]) F. Honcamp, M. Popp u. J. Volhard, Untersuchungen über den Nährwert und die Verdaulichkeit von schalenreichem Baumwollsaatmehl und getrockneten Heferückständen. Landwirtsch. Versuchsstationen 63, 263, 1906.

[3]) Wilhelm Völtz u. August Baudrexel, Die Verwertung der Hefe im menschlichen Organismus. Diese Zeitschr. 30, 457, 1911.

Tabelle I.

Versuchsreihe	Versuchsperiode	Hefe: Trocken-substanz	Hefe: N-Gehalt der frischen Hefe	Hefe: Chemische Energie in 1 g der Trocken-substanz	Hefe: Chemische Energie in 1 g der frischen Hefe	Fattingers Hundebrot: N-Gehalt	Fattingers Hundebrot: Chemische Energie in 1 g	Kot: lufttrocken pro 24 Stunden	Kot: N-Gehalt	Kot: N-Gehalt pro 24 Stunden	Kot: N-Gehalt im Spül-wasser der Käfige pro 24 Stunden
		%	%	kg-Cal.	kg-Cal.	%	kg-Cal.	g	%	g	g
A	III. 24.–26.IV.		1,74					11,24	4,09	0,46	0,14
	III. 26.–27.IV.		1,76					11,24	4,09	0,46	0,14
B	I.					3,47	4,094	14,52	4,40	0,64	0,11
	II.	29,46	1,85	4,623	1,362	3,47	4,094				
	III. 22.–23.VI.	29,46	1,85	4,623	1,362	3,47	4,094	28,56	5,30	1,51	0,27
	III. 23.–25.VI.	28,20	1,66	4,566	1,288	3,47	4,094	28,56	5,30	1,51	0,27
	IV.					3,47	4,094	19,32	4,60	0,89	0,15
C	I.					3,77	4,266	17,98	4,26	0,77	0,02
	II.					3,77	4,266	17,45	3,86	0,67	0,02
	III.	25,93	1,63	4,613	1,195	3,77	4,266	24,20	4,48	1,08	0,02
	IV.					3,77	4,266	20,09	4,23	0,85	0,02
D	II.	24,26	1,54	4,546	1,126			12,15	3,02	0,37	

Tabelle II.

(Versuchsreihe A.)

Versuchsperiode	Datum des Versuches	Körpergewicht am Beginne des Versuches	Körpergewicht am Ende des Versuches	Stickstoff: Einfuhr	Stickstoff: Ausgaben im Harn	Stickstoff: Ausgaben im Kot	Stickstoff: Ausgaben in Haaren und Epithelien	Stickstoff: Ausgaben Zusammen	Stickstoff: Bilanz	Nahrung
		g	g	g	g	g	g	g	g	
I.	15.–16. IV. 908	4678	4530	0	1,32	0	0,12	1,44	–1,44	Hunger
	16.–17. IV. 908	4530	4350	0	2,05	0	0.12	2,17	–2,17	
	17.–18. IV. 908	4350	4350	0	2,03	0	0,12	2,15	–2,15	
	18.–19. IV. 908	4350	?	0	1,90	0	0,12	2,02	–2,02	
	Mittelwerte			**0**	**1,82**	**0**	**0,12**	**1,94**	**–1,94**	
II.	19.–24. IV. 908									Vorfütterung mit Hefe
III.	24.–25. IV. 908	3920	3830	1,74	1,94	0,60	0,12	2,66	–0,92	täglich 100 g Hefe
	25.–26. IV. 908	3830	3810	1,74	2,06	0,60	0,12	2,78	–1,04	
	26.–27. IV. 908	3810	3705	1,76	2,10	0,60	0,12	2,82	–1,06	
	Mittelwerte			**1,75**	**2,03**	**0,60**	**0,12**	**2,75**	**–1,01**	
IV.	27.–28. IV. 908	3705	3580	0	1,88	0	0,12	2,00	–2,00	Hunger
	28.–29. IV. 908	3580	?	0	1,87	0	0,12	1,99	–1,99	
	Mittelwerte			**0**	**1,87**	**0**	**0,12**	**2,00**	**–2,00**	

Tabelle III.
Versuchsreihe B.

Versuchsperiode	Datum des Versuches	Körpergewicht: am Beginn des Versuches	Körpergewicht: am Ende des Versuches	Stickstoff: Einfuhr	Stickstoff: Ausfuhr im Harn	Stickstoff: Ausfuhr im Kot	Stickstoff: Ausfuhr in Haaren u. Epithelien	Stickstoff: Ausfuhr zusammen	Stickstoff: Bilanz	Chemische Energie: Einfuhr	Chemische Energie: Ausfuhr im Harn	Chemische Energie: Ausfuhr im Kot	Chemische Energie: Ausfuhr zusammen	Cal. : N im Harn	Nahrung
		g	g	g	g	g	g	g	g	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.		
I.	17.—18. VI. 908	4840	4865	4,17	2,95	0,75	0,06	3,76	+ 0,41	770,3	20,0	55,4	75,4	6,8	täglich 120 g Fattingers Hundebrot und 30 g Fett.
	18.—19. VI. 908	4865	4950	4,17	2,83	0,75	0,06	3,64	+ 0,53	770,3	20,3	55,4	75,7	7,2	
	19.—20. VI. 908	4950	?	4,17	2,63	0,75	0,06	3,44	+ 0,73	770,3	20,2	55,4	75,6	7,7	
	Mittelwerte	. . .	. . .	**4,17**	**2,80**	**0,75**	**0,06**	**3,61**	**+ 0,56**	**770,3**	**20,2**	**55,4**	**75,6**	**7,2**	
II.	20.—22. VI. 908														Vorfütterung mit obigem Futtergemisch plus 100 g Hefe.
III.	22.—23. VI. 908	5000	5040	6,02	2,67	1,78	0,06	4,51	+ 1,51	906,4	20,2	124,0	144,2	7,6	täglich obiges Futtergemisch plus 100 g Hefe.
	23.—24. VI. 908	5040	5090	5,83	2,52	1,78	0,06	4,36	+ 1,47	899,0	16,4	124,0	140,4	6,5	
	24.—25. VI. 908	5090	5105	5,83	2,76	1,78	0,06	4,60	+ 1,23	899,0	25,7	124,0	149,2	9,3	
	Mittelwerte	. . .	. . .	**5,89**	**2,65**	**1,78**	**0,06**	**4,49**	**+ 1,40**	**901,5**	**20,8**	**124,0**	**144,8**	**7,8**	
IV.	25.—26. VI. 908	5105	5125	4,17	2,75	1,04	0,06	3,85	+ 0,32	770,3	18,1	76,3	94,4	6,6	täglich obiges Futtergemisch ohne Hefezusatz.
	26.—27. VI. 908	5125	5140	4,17	2,74	1,04	0,06	3,84	+ 0,33	770,3	(?)[1]	76,3	(?)[1]	(?)[1]	
	27.—28. VI. 908	5140	?	4,17	2,84	1,04	0,06	3,94	+ 0,33	770,3	21,0	76,3	97,3	7,4	
	Mittelwerte	. . .	. . .	**4,17**	**2,78**	**1,04**	**0,06**	**3,88**	**+ 0,29**	**770,3**	**19,6**	**76,3**	**95,9**	**7,0**	

[1]) **Analyse mißglückt.**

Tabelle IV.

Versuchsreihe C.

Versuchsperiode	Datum des Versuches	Körpergewicht am Beginn des Versuches	Körpergewicht am Ende des Versuches	Stickstoff Einfuhr	Stickstoff Ausfuhr im Harn	Stickstoff Ausfuhr im Kot	Stickstoff Ausfuhr in Haaren u. Epithelien	Stickstoff Ausfuhr zusammen	Stickstoff Bilanz	Chemische Energie Einfuhr	Chemische Energie Ausfuhr im Harn	Chemische Energie Ausfuhr im Kot	Chemische Energie Ausfuhr zusammen	Cal. : N im Harn	Nahrung
		g	g	g	g	g	g	g	g	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.		
I.	28.—29. X. 908	5116	5145	4,33	2,50	0,79	0,06	3,35	+ 0,98						täglich 115 g Fattingers Hundebrot und 30 g Fett.
	29.—30. X. 908	5145	5190	4,33	2,86	0,79	0,06	3,71	+ 0,62						
	30.—31. X. 908	5190	5150	4,33	2,39	0,79	0,06	3,24	+ 1,09						
	31. X.—1. XI. 908	5150	5165	4,33	2,35	0,79	0,06	3,20	+ 1,13						
	Mittelwerte			**4,33**	**2,52**	**0,79**	**0,06**	**3,37**	**+ 0,95**						
II.	1.—2. XI. 908	5165	5225	4,33	2,66	0,69	0,06	3,41	+ 0,92	769,7	22,9	69,7	92,6	8,6	dasselbe.
	2.—3. XI. 908	5225	5259	4,33	2,62	0,69	0,06	3,37	+ 0,96	769,7	21,8	69,7	91,5	8,3	
	3.—4. XI. 908	5259	5263	4,33	2,66	0,69	0,06	3,41	+ 0,92	769,7	21,0	69,7	90,7	7,9	
	4.—5. XI. 908	5263	5342	4,33	2,58	0,69	0,06	3,33	+ 1,00	769,7	21,4	69,7	91,1	8,3	
	Mittelwerte			**4,33**	**2,63**	**0,69**	**0,06**	**3,38**	**+ 0,95**	**769,7**	**21,8**	**69,7**	**91,5**	**8,3**	
III.	5.—6. XI. 908	5342	5400	5,96	2,87	1,10	0,06	4,03	+ 1,93	889,3	23,6	104,3	127,9	8,2	dasselbe plus 100 g Hefe.
	6.—7. XI. 908	5400	5445	5,96	2,88	1,10	0,06	4,04	+ 1,92	889,3	24,5	104,3	128,8	8,5	
	7.—8. XI. 908	5445	5412	5,96	3,01	1,10	0,06	4,17	+ 1,79	889,3	25,9	104,3	130,2	8,6	
	8.—9. XI. 908	5412	5410	5,96	3,03	1,10	0,06	4,19	+ 1,77	889,3	26,6	104,3	130,9	8,8	
	Mittelwerte			**5,96**	**2,95**	**1,10**	**0,06**	**4,11**	**+ 1,85**	**889,3**	**25,1**	**104,3**	**129,4**	**8,5**	
IV.	9.—10. XI. 908	5410	5484	4,33	2,94	0,87	0,06	3,87	+ 0,46	769,7	24,1	82,1	106,2	8,9	obiges Futtergemisch ohne Hefezusatz.
	10.—11. XI. 908	5484	5500	4,33	2,64	0,87	0,06	3,57	+ 0,76	769,7	23,6	82,1	105,7	8,9	
	11.—12. XI. 908	5500	5490	4,33	2,56	0,87	0,06	3,49	+ 0,84	769,7	23,2	82,1	105,3	9,0	
	12.—13. XI. 908	5490	?	4,33	2,73	0,87	0,06	3,66	+ 0,67	769,7	23,2	82,1	105,3	8,5	
	Mittelwerte			**4,33**	**2,72**	**0,87**	**0,06**	**3,65**	**+ 0,68**	**769,7**	**23,5**	**82,1**	**105,6**	**8,8**	

Tabelle V.

Versuchsreihe D.

Versuchsperiode	Datum des Versuches	Körpergewicht am Beginn des Versuches	Körpergewicht am Ende des Versuches	Stickstoff Einfuhr	Stickstoff Ausfuhr im Harn	Stickstoff Ausfuhr im Kot	Stickstoff Ausfuhr zusammen	Stickstoff Bilanz	Chemische Energie Einfuhr	Chemische Energie Ausfuhr im Harn	Chemische Energie Ausfuhr im Kot	Chemische Energie Ausfuhr zusammen	Cal.: N im Harn	Nahrung
		g	g	g	g	g	g	g	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.		
I.	5—6. I. 909	5500	5400	0	1,65	0	1,65	— 1,65	0	14,8	0	14,8	9,0	Hunger.
	6—7. I. 909	5400	5300	0	1,62	0	1,62	— 1,62	0	14,5	0	14,5	9,0	
	7—8. I. 909	5300	5230	0	1,46	0	1,46	— 1,46	0	11,8	0	11,8	8,1	
	Mittelwerte			**0**	**1,58**	**0**	**1,58**	**— 1,58**	**0**	**13,7**	**0**	**13,7**	**8,7**	
II.	8— 9. I. 909	5230	5125	1,54	2,16	0,37	2,53	— 0,99	112,6	18,6	42,7	61,3	8,6	**täglich 100 g Hefe.**
	9—10. I. 909	5125	5050	1,54	2,32	0,37	2,69	— 1,15	112,6	21,0	42,7	63,7	9,0	
	Mittelwerte			**1,54**	**2,24**	**0,37**	**2,61**	**— 1,07**	**112,6**	**19,8**	**42,7**	**62,5**	**8,8**	
III.	10—11. I. 909	5050	5000	0	2,17	0	2,17	— 2,17	50,4	18,8	0	18,8	8,7	**täglich 12,3 g Weizenstärke.**
	11—12. I. 909	5000	4920	0	1,64	0	1,64	— 1,64	50,4	15,1	0	15,1	9,2	
	12—13. I. 909	4920	4830	0	1,57	0	1,57	— 1,57	50,4	14,0	0	14,0	8,9	
	Mittelwerte			**0**	**1,79**	**0**	**1,79**	**— 1,79**	**50,4**	**16,0**	**0**	**16,0**	**8,9**	
IV.	**13—14. I. 909**	**4830**	?	0	1,50	0	1,50	— 1,50	0	11,4	0	11,4	7,6	Hunger.

Völtz, Paechtner u. Baudrexel[1]) am Hammel 84 bis 88 %
Rubner[2]) . . . . am Hund 98,4 %

Diese höheren Werte dürften meines Erachtens großenteils dadurch verursacht sein, daß von den genannten Autoren sog. Trockenhefe verwendet wurde, während meine Versuchstiere ganz frische Hefe erhielten. Es ist nun wahrscheinlich, daß die lebende Zelle den Verdauungs-Enzymen stärkeren Widerstand leistet als die abgetötete, die im Darmkanal leichter aufgeschlossen werden kann. Ferner erhielten aber meine Tiere relativ mehr Hefe als so manche Versuchsobjekte der genannten Autoren.

Daß die nicht besonders ausgiebige Resorption des Hefe-N an der Hefe selbst gelegen war und nicht etwa an einer unzweckmäßigen Zusammensetzung des übrigen Futtergemisches oder aber an einer mangelhaften Darmfunktion der Tiere, geht daraus hervor, daß der Verdauungskoeffizient des N an den hefefreien Tagen in Versuchsreihe B 82 resp. 75, in Versuchsreihe C 82 resp. 84 resp. 80% betragen hatte.

Verwertung des Hefe-Eiweißes. Aus den Stäben der Tabellen II bis V, die uns über die N-Bilanz der Tiere Auskunft geben, ist sofort ersichtlich, daß das Hefeeiweiß am Hungertier Körpereiweiß vor der Zersetzung zu schützen, am gefütterten Tier aber, das ohnehin bereits Eiweiß aus der Nahrung ansetzt, diesen Ansatz noch erheblich zu steigern vermag. Dies ist nachstehender Zusammenstellung besonders klar zu entnehmen:

	N-Bilanz		
Versuchsreihe	Vor der Hefefütterung	In der Hefeperiode	Nach der Hefefütterung
	g	g	g
A	— 1,94	— 1,01	— 2,00
D	— 1,58	— 1,07	— 1,50
B	+ 0,56	+ 1,40	+ 0,29
C	+ 0,95	+ 1,85	+ 0,68

[1]) Wilhelm Völtz, Johannes Paechtner u. August Baudrexel, Über die Verwertung der Trockenhefe durch die landwirtschaftlichen Nutztiere. Landwirtsch. Jahrbücher. 42, 193, 1912.

[2]) Max Rubner, Die Resorbierbarkeit der Nährhefe. Deutsche med. Wochenschr. 63, 629, 1916.

Hefeeiweiß wird demnach sowohl von hungernden als auch von gefütterten Tieren verwertet. An letzteren kann es auffallen, daß die N-Retention in der hefefreien Nachperiode eine wesentlich geringere ist, als sie es in der hefefreien Vorperiode gewesen ist. Diese Erscheinung ist schon Völtz in seiner erwähnten Arbeit aufgefallen und von ihm zum Teil einer die Eiweißzersetzung steigernder Nachwirkung der Hefe zugeschrieben worden, zum Teil dem zunehmenden Bestreben des Organismus, ins N-Gleichgewicht zu kommen.

In meinen Versuchen können wir mit einer einfacheren Erklärung das Auslaugen finden. Es dürfte nämlich die Abgrenzung des Kotes am Ende der Hefeperiode keine vollkommene gewesen sein, demzufolge sich dem Kot der hefefreien Nachperiode N-reicher Kot der Hefeperiode beigemischt hatte. Denn in der Tat wurde in den hefefreien Nachperioden IV der Versuchsreihen B und C wesentlich mehr N im Kot gefunden als in den hefefreien Vorperioden I resp. I und II. In den Versuchsreihen C und D kam noch hinzu, daß am ersten Tage der hefefreien Nachperiode offenbar noch N der vorangehend resorbierten Hefe entleert wurde, und erst am nächsten Tag ein stärkerer Abfall des Harn-N eintrat.

Was nun die Verbesserung der N-Bilanz durch die Verfütterung von Hefe anbelangt, könnte es sein, daß die N-freien Hefebestandteile eine Ersparnis an Körpereiweiß bewirkten, also nur scheinbar eine Retention von Hefeeiweiß eingetreten war. Um diese Frage zu entscheiden, habe ich in Periode III der Versuchsreihe D dem Tier so viel Stärke gegeben, als in der vorausgegangenen Hefeperiode mit der Hefe an N-freier Substanz eingeführt wurde. (Diese ließ sich aus dem aus Tab. I bekannten Trockengehalt und Eiweißgehalt der Hefe leicht berechnen). Es zeigte sich, daß durch die Stärke das N-Defizit keineswegs herabgedrückt wird, sondern im Gegenteil, im Vergleiche zur hefefreien Vorperiode sogar eine Steigerung um etwa 13 % erfährt. Diese Zunahme des Defizits läßt sich allerdings ebensogut durch die oben erwähnte erhöhte N-Ausscheidung am ersten Tage der Stärkeperiode erklären; immerhin läßt sich aber so viel sicher aussagen, daß die Besserung der Eiweißbilanz durch Hefeverfütterung nicht von einer eiweiß-

sparenden Wirkung der N-freien Hefebestandteile herrührt, sondern davon, daß Hefeeiweiß für das Körpereiweiß eintritt.

Resorption und Verwertung der in der Hefe eingeführten chemischen Energie. Da in meinen Versuchsreihen mit alleiniger Ausnahme der ganzen Versuchsreihe A und der Versuchsperiode I in Versuchsreihe C sowohl in den Einnahmen des Tieres als auch in Harn und Kot der Gehalt an chemischer Energie bestimmt wurde, konnten sowohl der Verdauungskoeffizient der in der Hefe eingeführten chemischen Energie als auch der physiologische Nutzeffekt der Hefe berechnet werden.

War schon der Verdauungskoeffizient des Hefeeiweißes geringer als der des Eiweißes im übrigen Futtergemisch, so fiel, wie der nachstehenden Zusammenstellung zu entnehmen ist, der Unterschied bezüglich der Resorption und Verwertung der Hefeenergie und der chemischen Energie des übrigen Futtergemisches noch größer aus. (Allerdings muß bemerkt werden, daß der Verdauungskoeffizient der hefefreien Nahrung schon aus dem Grunde so hoch ausfallen mußte, weil das Fett mit seinem hohen spezifischen Energiegehalt offenbar sehr ausgiebig resorbiert wurde.) Die Berechnung erfolgte, wie gewöhnlich, einfach so, daß das Energie-Plus in Harn und Kot während der Hefeperiode gegenüber der hefefreien Vorperiode ohne weiteres als von der eingeführten Hefe herrührend betrachtet wurde.

Versuchs-reihe	Versuchs-periode	Von dem chemischen Energiegehalt der Hefe wurden resorbiert %	verwertet %
D	II	62,1	50,7
B	III	47,7	47,2
C	III	71,1	68,3

Versuchs-reihe	Versuchs-periode	Von dem chemischen Energiegehalt des hefefreien Futtergemisches wurden resorbiert %	verwertet %
B	I	92,9	90,2
B	IV	90,1	87,6
C	II	90,9	88,1
C	IV	89,3	86,3

Zu einem richtigen Ergebnis bezüglich der Verwertung der in der Hefe eingeführten chemischen Energie gelangen wir, wenn nicht nur das Energie-Plus im Harn und Kot während der Hefefütterung im Vergleiche zur hefefreien Vorperiode als unausgenutzte Energie betrachtet wird, sondern außerdem noch diejenige Energiemenge, die der Harn enthalten hätte, wenn der gesamte resorbierte Hefe-N im Harn wiedererschienen wäre. Um diese Energiemenge zu ermitteln, wird aus dem Energie- und N-Plus im Harn der Hefeperiode im Vergleich zur hefefreien Vorperiode der Quotient Cal.: N gebildet, mit diesem Quotienten der resorbierte Hefe-N multipliziert und dieses Produkt nebst dem Energie-Plus im Kot von der in der Hefe eingeführten chemischen Energie subtrahiert: der Rest entspricht der verwerteten Energie. In nachstehender Tabelle VI ist diese

Tabelle VI.

Versuchsreihe	a Chemische Energie der eingeführten Hefe kg-Cal.	b Eingeführter Hefe-N g	c N-Plus im Kot aus Hefe g	d Energie-Plus im Kot aus Hefe g	e N-Plus im Harn aus Hefe g	f Energie-Plus im Harn aus Hefe g	g Cal.:N (f:e) kg-Cal.	h (b — c) g kg-Cal.	i Nicht verwertete chemische Energie der Hefe = (d + h) kg-Cal.	Von der chemischen Energie der Hefe verwertet 100a:(a — i) %
D	112,6	1,54	0,37	42,7	0,66	7,1	10,8	12,6	55,3	50,9
B	131,2	1,72	1,03	68,6	— 0,15	0,6	—[1]	7,2	69,8	53,2
C	119,5	1,63	0,41	34,6	0,32	3,3	10,3	12,6	47,2	60,5

Berechnung durchgeführt und im letzten Stabe die Menge der verwertbaren Energie in Prozenten der eingeführten Menge ausgedrückt.

Es ist zu ersehen, daß die Verwertung der chemischen Energie der Hefe im Durchschnitt der drei Versuche 55% beträgt.

Da 1 g der Trockensubstanz der von mir verwendeten Hefe einen durchschnittlichen Gehalt an chemischer Energie von 4,60 kg-Cal. enthält, so ergibt sich für den physiologischen Nutzeffekt der Hefentrockensubstanz der Wert 2,52 kg-Cal.

[1]) Cal.: N ist aus den sehr kleinen Werten von e und f nicht zu berechnen; es wurde daher der mittlere Wert aus Versuchsreihe D und C in der Höhe von 10,5 zur weiteren Berechnung verwendet.

Da die Menge der in der Hefe eingeführten chemischen Energie an den gefütterten Tieren bloß zirka 15 % der gesamten Energiezufuhr betragen hatte, ist es nicht zu verwundern, wenn dieser geringe Zuschuß, der überdies nur zum Teil resorbiert resp. verwertet wurde, auf das Verhalten des Körpergewichtes keinerlei Wirkung ausübte, wie aus nachstehender Zusammenstellung ersichtlich ist. Um so eher war eine Veränderung im Verhalten des Körpergewichtes in den Hungerversuchsreihen A und D zu erwarten, da hier immerhin ein ansehnlicher, vorher ungedeckter Teil des Hungerbedarfes der Tiere durch die Hefe zur Deckung kam. Diese erwartete Veränderung ist jedoch bloß in Versuchsreihe A eingetroffen, indem das Tier in der Hefeperiode ausgesprochen weniger an Gewicht verloren hatte als in der hefefreien Vor- und Nachperiode; in Versuchsreihe D war der Gewichtsverlust in allen Perioden ungefähr gleich groß.

Versuchsreihe	Versuchsperiode	Gewichtsveränderung pro 24 Stunden
A	I	— 109 g
	III (Hefe)	— 72 „
	IV	— 125 „
B	I	+ 55 „
	III (Hefe)	+ 35 „
	IV	+ 17 „
C	I	+ 12 „
	II	— 6 „
	III (Hefe)	+ 17 „
	IV	+ 27 „
D	I	— 90 „
	II (Hefe)	— 90 „
	III	— 73 „

Als das Endergebnis voranstehend mitgeteilter Versuche läßt sich demnach feststellen, daß das Hefeeiweiß, in den tierischen Organismus eingebracht, nicht nur resorbiert wird, sondern auch zum Ansatz kommt, ferner, daß die chemische Energie der Hefe zu etwa ihrer Hälfte verwertet wird.

Diese Arbeit wurde auf Anregung und unter der Leitung des Herrn Prof. F. Tangl ausgeführt.

Über den Einfluß des Phlorizins auf den Energieumsatz.

Von

Paul Hári und Zoltán Aszódi.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institute der Universität Budapest [Direktor: Paul Hári].)

(Eingegangen am 2. Februar 1918.)

Die Tatsache, daß sich durch Einverleibung von Phlorizin eine vorübergehende Glycosurie erzeugen, ja, durch fortgesetzte Darreichung des Glucosides längere Zeit hindurch erhalten läßt, war von äußerst fruchtbringender Wirkung auf die Lehre vom physiologischen und pathologischen Kohlenhydratumsatz. Nicht minder wichtig sind jedoch die Veränderungen, die unter der Einwirkung des Phlorizins im Energieumsatz beobachtet und mit dem gesteigerten Eiweißzerfall in Verbindung gebracht wurden. Namentlich waren es letztere Beobachtungen, aus denen gewisse Folgerungen bezüglich der — wie man gestehen muß — noch immer recht rätselhaften Frage der spezifisch-dynamischen Wirkung des Eiweißes gezogen wurden.

Den Veränderungen im Energieumsatz ist eine recht beschränkte Anzahl von Experimental-Arbeiten gewidmet worden, auf die wir nur teilweise zurückkehren wollen, da sie ja von verschiedenen Autoren, zum letztenmal im Jahre 1912 von Belák[1]) gewürdigt sind. Hier wollen wir bloß bemerken, daß es sich teils um Gaswechselversuche handelt, in denen aus dem Verhalten der Kohlensäureproduktion resp. des Sauerstoffverbrauches auf den Energieumsatz gefolgert wird, teils um Versuche, in denen aus dem N- und dem gesamten C-Umsatz der Energie-

[1]) Alexander Belák, Die Wirkung des Phlorizins auf den Gaswechsel und die Nierenarbeit. Diese Zeitschr. **44**, 213, 1912.

umsatz berechnet wurde; endlich um eine verschwindend geringe Anzahl von Versuchen, in denen der Energieumsatz durch direkte Calorimetrie bestimmt wurde.

Bei der prinzipiellen Wichtigkeit der obschwebenden Frage schien es mir von Wichtigkeit, das Verhalten des Energieumsatzes im Phlorizin-Diabetes durch möglichst einwandfreie, direkte calorimetrische Versuche zu prüfen. Ursprünglich planten wir in diesen Versuchen, — die im physiologisch-chemischen Institut zu einer Zeit ausgeführt wurden, als es noch unter Leitung des Herrn Prof. Tangl gestanden hatte — zunächst die Wirkung einer einmaligen Dosis des Glucosides festzustellen, die noch genügt, um eine vorübergehende Glucosurie zu erzeugen; sodann zu Versuchen überzugehen, in denen das Versuchstier durch fortgesetzte Gaben sich im Zustande eines wirklichen Phlorizindiabetes befindet.

Nun ergaben bereits die ersten, mit den einmaligen Dosen angestellten Versuche so bemerkenswerte Ergebnisse, daß die Untersuchungen mit den wiederholt fortgesetzten Dosen vorläufig unterblieben sind.

Zu den Versuchen wurden teils Hunde, teils weiße Ratten verwendet.

A. Hundeversuche.

Versuchseinrichtung. In allen Versuchen wurde der Energieumsatz einerseits direkt bestimmt, und zwar — mit Ausnahme einer Versuchsreihe, die im Rubnerschen Calorimeter ausgeführt wurde — im Tanglschen Respirationscalorimeter, dessen kleineres Modell[1]) vor einiger Zeit beschrieben wurde. Andererseits wurde nebst dem N- auch der gesamte C-Umsatz bestimmt, so daß der Energieumsatz aus den Zersetzungen berechnet werden konnte. (Nebenbei sei bemerkt, daß zur Zeit dieser Versuche das Rubnersche und Tanglsche Calorimeter im selben Raume aufgestellt und mit einer großen Gasuhr resp. mit dem Apparate zur Teilstromanalyse so verbunden

[1]) Franz Tangl, Ein Calorimeter für kleine Tiere. Diese Zeitschr. 53, 21.

waren, daß die beiden Apparate — nach entsprechender Umstellung eines Hahnes — alternativ benutzt werden konnten.) Bezüglich aller Details, namentlich der indirekten Calorimetrie, sei, um Wiederholungen zu vermeiden, auf frühere Publikationen des einen von uns (Hári), in dieser Zeitschrift hingewiesen. Hier sei nur so viel bemerkt, daß der mit dem Spülwasser verdünnte Harn in einem Scheidetrichter von Paraffinöl gesondert und auf ein rundes Volumen aufgefüllt wurde; in aliquoten Anteilen wurde sodann die N- und C-Bestimmung in der gewohnten Weise, die Zuckerbestimmung durch Vergären im Lohnsteinschen Apparat ausgeführt.

Beschreibung der Versuche. Zu den Versuchen dienten drei Hündinnen, die nach der Falkschen Methode operiert und nach vollständiger Heilung der Wunde zu den Versuchen eingestellt wurden. Um Wiederholungen zu vermeiden, sei hier vorausgeschickt, daß stets Mercksches Phlorizin verwendet und dessen Lösung immer erst knapp vor der Einspritzung frisch bereitet wurde. Das Tier wurde jedesmal 10 bis 15 Minuten nach erfolgter Einspritzung in das Calorimeter hineingebracht.

Versuchsreihe I. Tier A; langhaarig; 4. I. 1913 zum letztenmal gefüttert und die Versuche im Tanglschen Apparat am 3. Hungertag begonnen. Am 5. und 6. Hungertag erhielt es je 10 ccm einer 3%igen Lösung von Phlorizin in einer 1%igen Lösung von kohlensaurem Natrium unter die Haut gespritzt, wobei es noch einige Minuten lang Schmerzen äußert. Nach Abschluß der Versuche wird konstatiert, daß die Einstichstellen reaktionslos und auf Druck nicht schmerzhaft sind.

Versuchsreihe II. Nach Abschluß der Versuchsreihe I wird Tier A bis einschließlich 2. III. 1913 gefüttert; hungert von da ab, und werden an ihm die Versuche im Tanglschen Apparat am 2. Hungertag wieder aufgenommen. Am 4. Hungertag erhält es Phlorizin wie oben; Einstichstelle schmerzlos.

Versuchsreihe III. Tier B; langhaarig; am 24. II. 1913 zum letztenmal gefüttert; am nächsten Tage wurden die Versuche im Rubnerschen Apparat begonnen. Am 3. Hungertag erhält es 0,30 g Phlorizin wie oben unter die Oberschenkelhaut gespritzt. Am 5. Hungertag ist die Einstichstelle auf Druck schmerzhaft, und nach Abschluß der Versuche hat sich dort eine kleinapfelgroße schmerzhafte Geschwulst entwickelt.

Versuchsreihe IV. Tier C; kurzhaarig; am 21. I. 1913 zum letztenmal gefüttert und die Versuche im Tanglschen Apparat am 2. Hungertag begonnen. Am 4. Hungertage erhält es 12 ccm einer 3,3%igen Lösung von Phlorizin in einer 1%igen Lösung von kohlensaurem Natrium unter die Rückenhaut gespritzt. Am Ende des Ver-

suches stellte sich heraus, daß das Tier, nachdem sich das Gitter, auf dem es im Apparat stand, verschoben hatte, vom Paraffinöl, unter dem der Harn aufgefangen werden sollte, getrunken hat. Dabei war es sehr matt und verendete am nächsten Nachmittag.

Diesen Versuchsreihen schlossen sich zwei weitere an, in denen nicht Phlorizin, sondern dessen Spaltprodukt, Phloretin, injiziert wurde.

Versuchsreihe V. Nach Abschluß der Versuchsreihe II wurde Tier A bis einschließlich 12. IV. 1913 regelmäßig gefüttert, dann am 2. Hungertag die Versuche im Tanglschen Apparat wieder begonnen. Am 5. Hungertag erhält es 20 ccm einer 0,9%igen Lösung von Phloretin in einer 2,5%igen Lösung von kohlensaurem Natrium unter die Haut gespritzt. Die Einstichstelle ist und bleibt völlig reaktionslos.

Versuchsreihe VI. Die Geschwulst, die sich am Tier B nach Abschluß der Versuchsreihe III entwickelt hatte, war nach eiteriger Einschmelzung bald nachher aufgegangen (durch das Tier selbst aufgebissen?) und dann allmählich verheilt. Nachdem das Tier bis einschließlich 2. V. 1913 gefüttert wurde, begannen die Versuche am 3. Hungertage im Tanglschen Apparat. Am 5. Hungertag erhielt es 20 ccm einer 1%igen Lösung von Phloretin in einer 2,5%igen Lösung von kohlensaurem Natrium unter die Haut gespritzt. Die Einstichstelle war reaktionslos geblieben.

Die Versuchsergebnisse. Die Ergebnisse sämtlicher Versuchsreihen sind in den Tabellen I bis III zusammengestellt, und zwar haben wir der Einfachheit halber Phlorizin- und Phloretinversuche jeweils in dieselbe Tabelle aufgenommen. Tabelle I enthält die allgemeinen Daten der Versuche, Tabelle II die Daten des N- und C-Umsatzes, sowie die Berechnung der Wärmeproduktion aus den Zersetzungen (indirekte Calorimetrie); Tabelle III enthält die Daten der direkten Calorimetrie.

Ehe wir an die Besprechung der Veränderung gehen, die der Energieumsatz am Tage der Phlorizin-Einspritzung erleidet, sollen erst die Werte verglichen werden, die durch indirekte und direkte Calorimetrie erhalten wurden. Es muß leider gesagt werden, daß die Übereinstimmung mit Ausnahme der Versuchsreihe II weniger befriedigend ist, wie aus nachfolgender Tabelle IV hervorgeht. Die Differenzen lassen sich noch leidlich erklären, wenn, wie in den weitaus meisten Versuchen, die Berechnung einen größeren Wert ergibt als die direkte Calorimetrie; wird doch für gewöhnlich der gesamte Nichteiweiß-C als von Fettverbrennung herrührend in Rechnung gebracht, was ja an den ersten Hungertagen, wo noch Glykogen verbrannt wird, das Endergebnis höher erscheinen lassen muß

Tabelle

Allgemeine Daten der Versuche

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Datum des Versuches	Wievielter Hungertag	Beginn des Versuches	Dauer des Versuches Std.	Ventilation pro 24 Stunden cbm	Mittlere Temperatur im Tierraum °	Körpergewicht am Beginn des Versuches g	Körpergewicht am Ende des Versuches g	Körpertempe- am Beginn des Versuches °
Phlorizin-										
I.[1] Tier A.	1	7.— 8. I. 1913	3.	10^h 0′ vm.	23,25	42	24,0	6842,0	6693,5	38,8
	2	8.— 9. I. 1913	4.	11^h50′ „	20,67	39	24,0	6784,0	6509,4	37,8
	3	9.—10. I. 1913	5.	11^h35′ „	20,92	40	25,0	6604,2	6277,0	38,6
	4	10.—11. I. 1913	6.	11^h22′ „	21,13	40	26,5	6370,0	6013,0	39,0
II.[2] Tier A.	5	4.—5. IV. 1913	2.	4^h0′ nm.	18,00	29	24,0	6675,0	6588,5	38,6
	6	5.—6. IV. 1913	3.	4^h45′ „	17,75	29	24,0	6511,0	6386,5	38,3
	7	6.—7. IV. 1913	4.	5^h0′ „	16,75	28	24,0	6349,0	6151,5	38,8
	8	7.—8. IV. 1913	5.	6^h0′ „	16,00	26	24,5	6109,9	6053,7	38,5
III.[3] Tier B.	9	25.—26. II. 1913	1.	4^h45′ nm.	17,25	28	28,5	6780,0	6585,5	39,3
	10	26.—27. II. 1913	2.	4^h25′ „	17,58	29	28,5	6516,0	6374,5	38,6
	11	27.—28. II. 1913	3.	4^h25′ „	17,08	29	29,0	6285,0	6101,0	38,7
	12[5]	1.—2. III. 1913	5.	5^h15′ „	15,50	26	29,2	5757,0	5581,0	38,3
IV. Tier C.	13	23.—24. I. 1913	2.	10^h20′ vm.	21,84	33	27,8	8502,0	8114,0	38,9
	14	24.—25. I. 1913	3.	3^h35′ nm.	16,67	25	29,0	7970,0	7674,0	38,7
	15	25.—26. I. 1913	4.	11^h30′ vm.	20,75	32	28,9	7697,0	7096,0	39,3
Phloretin-										
V.[4] Tier A.	16	14.—15. IV. 1913	2.	1^h10′ nm.	21,83	37	24,6	7503,0	7326,0	38,6
	17	15.—16. IV. 1913	3.	5^h 0′ „	19,50	33	24,6	7273,2	7155,0	38,5
	18	16.—17. IV. 1913	4.	6^h20′ „	21,25	33	25,2	7058,5	6926,5	38,4
	19	17.—18. IV. 1913	5.	10^h30′ vm.	22,83	37	25,0	6765,5	6615,0	39,5
	20	19.—20. IV. 1913	7.	12^h10′ nm.	21,25	32	23,8	6513,7	6307,2	38,5
VI. Tier B.	21	5.—6. V. 1913	3.	12^h0′ m.	22,33	38	23,8	7490,0	7379,0	38,7
	22	6.—7. V. 1913	4.	12^h20′ nm.	22,50	39	24,5	7361,0	7289,0	38,3
	23	7.—8. V. 1913	5.	5^h30′ „	18,25	30	22,7	7215,0	7167,0	38,6
	24	8.—9. V. 1913	6.	5′0′ „	19,33	29	23,8	7085,0	7034,5	38,3
	25	9.—10. V. 1913	7.	5^h45′ „	17,00	28	23,7	6955,5	6921,5	38,0

[1]) Auszugsweise mitgeteilt in Band 66 dieser Zeitschrift, als Versuchsreihe XIV.
[2]) „ „ „ „ 66 „ „ „ „ XVI.
[3]) „ „ „ „ 66 „ „ „ „ XV.
[4]) „ „ „ „ 66 „ „ „ „ XVII.
[5]) Calorimetrie vom 28. II. bis 1. III. mißlungen; die Körpertemperatur betrug
[6]) Der Harn wurde verdünnt, ehe er abgewogen war; daher die Berechnung des
[7]) 4,5 g Galle erbrochen.
[8]) Einige Tropfen Galle.

I.

im Respirations-Calorimeter.

Versuche.

per-ratur am Ende des Versuches	Mit der Ventilationsluft abgeführt CO_2	H_2O	Harn im Respirationsschrank	O_2-Verbrauch (berechnet)	RQ	Injiziertes Phlorizin resp. Phloretin	Bemerkungen
°	g	g	g	g		g	
37,8	89,2	153,6	0	93,8	0,692		
38,2	83,3	176,0	100,3	85,0	0,713		
38,5	97,1	251,8	77,3	99,0	0,713	0,30	ruhig, wie in den Normalversuchen.
39,8	106,1	276,9	84,3	110,3	0,700	0,30	von 5h morgens angef. unruhig, häufiges Bellen.
38,4	66,0	80,6	0	60,1	0,799		
38,1	63,7	80,1	39,2	58,5	0,791		
39,0	72,2	121,6	67,2	63,5	0,821	0,30	von 2h morgens angefangen unruhig.
38,7	56,7	54,2	0	54,7	0,754		
38,5	70,8	178,6	5,5	60,4	0,852		
38,8	67,9	138,8	0	65,2	0,758		
38,9	79,1	181,8	3,0	79,9	0,720	0,30	ruhig, wie in den Normalversuchen.
40,0	73,1	164,8	8,0	69,9	0,760		Einstichstelle geschwollen; druckempfindlich.
38,6	130,8	363,7	0	106,3	0,895		
39,5	101,8	281,0	4	90,8	0,815		
41,6	163,5	435,8	120,0	118,3	1,006(?)	0,40	matt, stirbt 24 Stunden später.

Versuche.

38,6	91,6	134,9	31,6	81,0	0,822		
38,4	79,1	115,9	0	76,8	0,749		
38,8	88,8	132,7	0	89,5	0,722		
39,8	111,3	144,6	0	104,8	0,772	0,18	gegen 1h morgens, dann von 7h 30' morgens angefangen, unruhig.
39,7	107,4	146,9	52,0	99,8	0,783		vollkommen ruhig.
37,5	80,1	70,0	?[6])	?	?		
37,7	79,7	62,8	4,5[7])	75,0	0,773		
37,8	65,0	49,1	0[8])	66,1	0,715	0,20	ruhig, wie in den Normalversuchen.
37,9	67,7	52,8	0	70,0	0,731		
37,8	58,2	43,7	0	57,9	0,731		

an diesem Tage 39,2 bis 39,5° C.

O_2-Verbrauches und des R.Q. unmöglich.

Tabelle

24stündiger Stickstoff-, Kohlenstoff-Umsatz, Berechnung der

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Mittleres Körpergewicht	N im Harn	C-Ausfuhr			Körpereiweiß zersetzt	Körperfett zersetzt
				im Harn	in dem ausgegebenen CO_2	zusammen		
		g	g	g	g	g	g	g
								Phlorizin-
I. Tier A.	1[1])	6767,5	1,60	1,75	25,11	26,86	10,0	28,3
	2[1])	6646,7	1,60	1,75	26,38	28,09	10,0	29,9
	3	6440,6	2,40	3,11[2])	30,39	33,50	15,0	33,3
	4	6191,5	3,37	3,70[2])	32,87	36,57	21,1	33,2
II. Tier A.	5	6631,7	0,82	1,12	22,75	23,87	5,6	27,5
	6	6423,7	1,29	1,10	23,48	24,58	7,7	26,7
	7	6250,2	2,36	2,22[2])	28,22	30,44	14,7	29,5
	8	6081,8	1,56	1,18	23,19	24,37	9,7	25,1
III. Tier B.	9	6632,7	2,03	2,05	26,88	28,93	12,7	29,0
	10	6445,2	2,09	1,73	25,29	27,09	13,0	26,2
	11	6193,0	4,10	2,87[2])	28,75	31,62	25,5	23,7
	12	5669,0	3,58	3,19	30,87	34,06	22,4	29,0
IV. Tier C.	13	8308	1,41	2,61	36,23	38,84	8,8	44,5
	14	7822	3,09	3,27	39,96	43,23	19,3	43,0
	15	7396	4,29	4,24[2])	51,59	55,83	26,8	54,3
								Phloretin-
V. Tier A.	16	7414,5	1,09	1,52	27,46	28,98	6,8	33,0
	17	7214,1	1,41	1,80	26,56	28,36	8,8	30,9
	18	6992,5	1,73	1,55	27,35	28,90	10,8	30,2
	19	6690,2	3,07	2,28	31,90	34,18	19,2	31,3
	20	6410,1	3,35	2,44	31,08	33,52	20,9	29,3
VI. Tier B.	21	7434,5	1,12	1,43	23,48	24,91	7,0	27,6
	22	7325	1,67	1,27	23,18	24,45	10,4	24,7
	23	7191	2,74	2,00	23,30	25,30	17,1	21,2
	24	7059,7	2,11	1,43	22,92	24,35	13,2	22,7
	25	6943,5	2,36	1,63	22,42	24,05	14,7	21,2

als der Wahrheit entspricht. Schwerer ist die Unstimmigkeit zu deuten, wenn, wie in Versuchsreihe III, die indirekt berechneten Werte die niedrigeren sind. Diese Unstimmigkeiten

[1]) Der Harn von Versuch 1 und 2 wurde vereinigt aufgearbeitet.

[2]) Nach Abzug des auf Harnzucker entfallenden Anteils.

[3]) Aus dem vorangehenden Versuch genommen.

II.

24stündigen Wärmeproduktion (indirekte Calorimetrie).

In Wärme umgesetzte chemische Energie aus Eiweiß kg-Cal.	aus Fett kg-Cal.	zusammen (A) kg-Cal.	Energiegehalt des Harns (B) kg-Cal.	Wärmeproduktion (A—B) kg Cal.	Wärmeproduktion per 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht kg-Cal.	Harnzucker g	Bemerkungen
Versuche.							
56,5	266,9	323,4	16,0	307,4	45,4		
56,5	281,0	338,0	16,0	322,0	48,4		
84,8	313,2	398,0	29,8[2])	368,2	57,2	5,4	Phlorizintag.
119,0	311,8	430,8	30,6[2])	400,2	64,6	5,2	
31,8	258,2	290,0	9,0	281,0	42,4		
43,7	250,8	294,5	9,0	285,5	44,4		
83,3	277,5	360,8	17,8[2])	344,3	55,1	4,8	Phlorizintag.
54,9	235,5	290,4	14,1	276,3	45,4		
71,5	272,2	343,7	20,0	323,7	48,8		
73,7	246,6	320,3	20,8	299,8	46,5		
144,1	222,9	367,0	21,4[2])	345,6	55,8	9,0	Phlorizintag.
126,4	272,6	399,0	32,5	366,5	64,6		
49,8	418,1	467,9	10,3	457,6	55,1		
109,1	404,5	513,6	23,5	490,1	62,6		
151,5	500,3	651,8	37,4[2])	624,4	84,4	8,1	Phlorizintag.
Versuche.							
38,5	310,5	349,0	10,4	338,6	45,7		
49,7	290,1	339,8	13,5	326,3	45,2		
61,1	283,9	345,0	17,3	327,7	46,7		
108,4	294,6	403,0	24,6	378,4	56,6	0	Phloretintag.
118,3	275,3	393,6	26,9	366,7	57,2		
39,4	256,6	296,0	8,3	287,7	38,7		
58,8	232,2	291,0	12,4	278,6	38,0		
96,6	199,6	296,2	20,4	275,8	38,3	0	Phloretintag.
74,6	213,0	287,6	10,8	276,8	39,2		
83,2	200,2	283,4	10,8[3])	272,6	39,3		

fallen jedoch, wie wir unten sehen werden, nicht sehr störend ins Gewicht, da ja hier hauptsächlich die **Veränderung** der Wärmeproduktion untersucht werden soll, und diese, wie sich herausstellen wird, meistens gleich groß gefunden wurde, ob es sich um die berechneten oder um die direkt bestimmten Werte handelt.

Tabelle III.

24 stündige Wärmeproduktion (durch direkte Calorimetrie bestimmt).

Phlorizin-Versuche

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Mittleres Körpergewicht g	Wärmeabgabe: An das Calorimeter abgegeben kg-Cal.	Wärmeabgabe: Mit der Ventilations-Luft abgeführt kg-Cal.	Wärmeabgabe: Verdampfungswärme des Wasserdampfes in der Ventilationsluft kg-Cal.	Wärmeabgabe: Gesamte Wärmeabgabe (A) kg-Cal.	Korrektion für die Gewichts- und Temperaturveränderung des Tieres (B) kg-Cal.	Wärmeproduktion (A—B) kg-Cal.	Wärmeproduktion per 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht kg-Cal.	Anmerkungen
I. Tier A.	1	6767,5	148,2	48,4	93,0	289,6	−10,0	279,6	41,3	
	2	6646,7	146,0	46,8	120,0	312,8	− 6,2	306,6	46,1	
	3	6440,6	141,5	43,8	167,6	352,9	−10,6	342,3	53,1	Phlorizintag.
	4	6191,5	142,8	46,1	184,8	373,7	− 7,3	366,4	59,2	Phlorizintag.
II. Tier A.	5	6631,7	176,2	45,9	63,1	285,2	− 4,3	280,9	42,4	
	6	6423,7	176,1	47,2	63,5	286,8	− 4,9	281,9	43,9	
	7	6250,2	196,6	50,9	102,3	349,8	− 5,2	344,6	55,1	Phlorizintag.
	8	6081,8	177,0	47,2	47,7	271,9	− 0,3	271,6	44,7	
III. Tier B.	9	6632,7	173,9	24,1	145,8	343,8	−10,3	333,5	50,3	
	10	6445,2	186,7	24,4	111,3	322,4	− 2,9	318,5	49,4	
	11	6193,0	202,3	26,1	149,8	379,0	− 4,8	374,2	61,2	Phlorizintag.
	12	5669,0	192,0	30,9	149,9	372,8	+ 2,2	375,0	66,2	
IV. Tier C.	13	8308,0	162,1	38,4	234,7	435,2	−16,0	419,2	50,5	
	14	7822,0	182,1	44,0	237,6	463,7	− 6,0	457,7	58,5	
	15	7396,0	214,2	54,6	296,0	564,8	− 6,0	558,9	75,6	Phlorizintag.
Phloretin-Versuche										
V. Tier A.	16	7414,5	179,8	49,6	87,7	317,1	− 5,5	311,5	42,0	
	17	7214,1	184,0	45,3	84,0	313,3	− 4,2	309,1	42,8	
	18	6992,5	188,7	49,8	88,7	327,2	− 0,8	326,4	46,7	
	19	6690,2	230,2	51,7	89,5	371,4	− 3,2	368,2	55,0	Phlorizintag.
	20	6410,1	239,1	56,7	98,1	393,9	− 0,3	393,6	61,4	
VI. Tier B.	21	7434,5	184,2	48,9	44,5	277,6	−10,6	267,0	35,9	
	22	7325,0	169,5	47,4	39,6	256,5	− 3,9	252,6	34,5	
	23	7191,0	180,1	46,9	38,2	265,2	− 6,1	259,1	36,0	Phlorizintag.
	24	7059,7	185,8	41,2	38,9	265,9	− 3,7	262,2	37,1	
	25	6943,5	177,1	45,6	36,5	259,2	− 2,5	256,7	37,0	

An ähnlichen Mängeln leiden übrigens auch die Versuche von Graham Lusk[1]), in dessen Normalversuchen der Unterschied recht unerheblich, an den Phlorizintagen jedoch weit größer ist, indem der berechnete Wert am Hund II bis zu 15 %, am Hund III bis zu 18 % größer ist als der direkt bestimmte.

[1]) Graham-Lusk. An investigation into the causes of the specific dynamic action of the foodstuffs. Journal of Biological Chemistry Band 20, 1915, S. 602. Dasselbe in: Cornell University Medical Bulletin 5, 1915.

Tabelle IV.

Die indirekte Calorimetrie ergibt mehr (+), resp. weniger (–), als die direkte; in Prozenten des direkt ermittelten Wertes.

Versuchsreihe I.	Vers. 1	+ 9,9	Versuchsreihe II.	Vers. 5	0	Versuchsreihe III.	Vers. 9	– 3,0
	„ 2	+ 5,0		„ 6	+ 1,1		„ 10	– 5,9
	„ 3	+ 7,7		„ 7	0		„ 11	– 8,8
	„ 4	+ 9,1		„ 8	+ 1,5		„ 12	– 2,4
Versuchsreihe IV.	Vers. 13	+ 9,1	Versuchsreihe V.	Vers. 16	+ 8,8	Versuchsreihe IV.	Vers. 21	+ 7,7
	„ 14	+ 7,0		„ 17	+ 5,6		„ 22	+ 10,1
	„ 15	+ 11,6		„ 18	0		„ 23	+ 6,4
				„ 19	+ 2,9		„ 24	+ 5,7
				„ 20	– 6,8		„ 25	+ 6,2

Die Veränderungen des Energieumsatzes unter der Einwirkung des Phlorizins sind aus nachstehender Tabelle V ersichtlich, in der die auf 1 kg Körpergewicht reduzierten Werte der Wärmeproduktion (der aus den Zersetzungen berechneten sowohl wie der direkt bestimmten) und des berechneten Sauerstoffverbrauchs zusammengestellt sind; desgleichen auch die Veränderung berechnet ist, die Wärmeproduktion und Sauerstoffverbrauch an den Phlorizintagen im Vergleiche zu den vorangehenden Normaltagen erleiden.

Aus Tabelle V ist ohne weiteres ersichtlich, daß der Energieumsatz von Hunden durch eine einmalige subcutane Injektion einer relativ geringen Dosis von Phlorizin, d. i. ca. 0,05 g pro 1 kg Körpergewicht, eine ansehnliche Steigerung erfährt, die man in keiner der vier Versuchsreihen, sei die Wärmeproduktion aus den Zersetzungen berechnet oder direkt bestimmt, vermißt. Desgleichen findet auch eine Zunahme des Sauerstoffverbrauches statt. Allerdings ist die Zunahme nicht immer die gleiche, je nachdem es sich um den Sauerstoffverbrauch oder um die berechnete oder direkt bestimmte Wärmeproduktion handelt.

Insbesondere ist Versuchsreihe IV weniger gut als die übrigen zu verwerten, denn die Wärmeproduktion erfährt hier

Tabelle V.

Eiweißzersetzung, Sauerstoffverbrauch und Wärmeproduktion pro 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Eiweißzersetzung	Sauerstoffverbrauch berechnet	Wärmeproduktion berechnet	Wärmeproduktion bestimmt	Zunahme der Eiweißzersetzung	Zunahme des Sauerstoffverbrauches	Zunahme der Wärmeproduktion berechnet	Zunahme der Wärmeproduktion bestimmt	Phlorizin pro 1 kg Körpergewicht
		g	g	kg-Cal.	kg-Cal.	%	%	%	%	g
Phlorizin-Versuche										
I	1	1,48 }1,49	14,3 }14,6	45,4 }46,9	41,3 }43,7					
	2	1,50 }	14,9 }	48,4 }	46,1 }					
	3	2,33	17,6	57,2	53,1	56	20,5	22,0	21,5	0,047
	4	3,41	20,2	64,6	59,2	129	38,3	37,7	35,1	0,048
II	5	0,84 }1,02	11,4 }11,8	42,4 }43,4	42,4 }43,1					
	6	1,20 }	12,3 }	44,4 }	43,9 }					
	7	2,35	14,6	55,1	55,1	130	23,7	24,6	27,8	0,048
	8	1,60	13,5	45,4	44,7	58	1,5	4,6	3,7	
III	9	1,92 }1,97	12,7 }13,2	48,8 }47,6	50,3 }49,8					
	10	2,02 }	13,8 }	46,5 }	49,4 }					
	11	4,12	17,2	55,8	61,2	109	30,1	17,2	22,9	0,048
	12	3,95	19,1	64,6	66,2	100	44,7	35,7	32,9	
IV	13	1,06 }1,76	14,1 }15,4	55,1 }58,8	50,5 }54,5					
	14	2,47 }	16,7 }	62,6 }	58,5 }					
	15	3,62	18,5	84,4	75,6	100	20,1	43,5	38,7	0,054
Phloretin-Versuche										
V	16	0,92 }1,23	12,0 }13,2	45,7 }45,9	42,0 }43,8					
	17	1,22 }	13,1 }	45,2 }	42,[illegible] }					
	18	1,54 }	14,4 }	46,7 }	46,7 }					
	19	2,87	16,5	56,6	55,0	133	25,0	23,3	25,6	0,027
	20	3,26	17,6	57,2	61,4	165	33,3	24,6	40,0	
VI	21	0,94 }1,18		38,7 }38,3	35,9 }35,2					
	22	1,42 }	10,9	38,0 }	34,5 }					
	23	2,38	12,1	38,3	36,0	102	11,0	0	2,3	0,028
	24	1,87	12,3	39,2	37,1	58	12,9	2,3	5,4	
	25	2,12	11,8	39,3	37,0	80	8,2	2,6	5,1	

bereits am 2. Normaltag eine sehr wesentliche Steigerung; auch ist die Eiweißzersetzung am 2. Normaltag $2^1/_2$mal so groß als am 1.; ferner steigt die Körpertemperatur des Tieres am Phlorizintag zu einer Höhe wie in keiner anderen Versuchsreihe, ist übrigens auch am 2. Normaltag bereits erhöht. End-

lich dürften in dieser Versuchsreihe Versuchsfehler unterlaufen sein, worauf schon die abnorme Höhe des R.Q. hinweist. Beeinträchtigt wird die Beweiskraft dieser Versuchsreihe auch durch den Umstand, daß das Tier im letzten Versuch von dem untergestellten Paraffinöl getrunken hatte und am nächsten Tage verendete.

In Versuchsreihen I und II hingegen besteht eine solche Übereinstimmung in der Zunahme der berechneten und direkt ermittelten Wärmeproduktion und des Sauerstoffverbrauchs, die wahrlich nichts zu wünschen übrig läßt und keiner weiteren Erörterung bedarf. Auch in den Versuchsreihen III, IV und VI stimmt die Zunahme der berechneten und bestimmten Wärmeproduktion genügend überein. (Die besonders gut übereinstimmenden Werte in Tabelle V sind durch Fettdruck hervorgehoben.)

Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit Rubners[1]) Befund an einem ca. 9,5 kg schweren Hund, der am 8. und 9. Hungertag zusammen 14 g (also 0,70 g pro 1 kg Körpergewicht) eingespritzt erhielt und dessen Energieumsatz hierbei um ca. 7 % angestiegen war. Die Wärmeproduktion wurde aus den Zersetzungen berechnet.

Auch Zuntz[2]) fand in mehreren Versuchen, in denen Hunde Phlorizin subcutan erhielten, eine Zunahme des Sauerstoffverbrauches um 5 bis 14 %.

A. A. Mandel und Gr. Lusks[3]) hungernder Hund I erhielt mehr als 1 g pro 1 kg Körpergewicht subcutan eingespritzt; an beiden Normaltagen betrug die berechnete Wärmeproduktion pro 1 kg Körpergewicht und 24 Stunden 56 resp. 54, am Phlorizintag 53 kg-Cal.[4])

Hund II derselben Autoren produzierte am Normaltag 40 kg-Cal. 2 Tage später erhielt das Tier 0,76, am folgenden Tag 0,34 g Phlorizin pro Gewichtseinheit eingespritzt; am letzteren Tag produzierte er 51 kg-Cal., also um 24 % mehr.

---

[1]) Max Rubner, Die Gesetze des Energieverbrauches bei der Ernährung. 1902, 370.

[2]) N. Zuntz, Verdauungsarbeit und spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrungsmittel. Mediz. Klinik 1, Nr. 8 u. 9, 351, 1910.

[3]) Arthur A. Mandel und Graham Lusk, Respiration experiments in phlorizin-diabetes. American Journal of Physiology. 10, 47, 1903.

[4]) Diese Werte sind von mir auf Grund des wahrscheinlichen Gewichtsverlustes der Hungertiere berechnet, da sie in der Publikation nicht angeführt sind.

In einer neuesten Versuchsreihe von Graham Lusk[1]) erhielt Hund II an mehreren Tagen hintereinander gegen 0,12 g Phlorizin in Öl gelöst pro 1 kg Körpergewicht eingespritzt (außerdem dieselbe Dosis per os).

Seine Wärmeproduktion stieg direkt bestimmt von 38,4 und 36,9 an den Normaltagen bis zu 41,3 kg-Cal. am zweiten Phlorizintag, hatte also um etwa 10⁰/₀ zugenommen.

Auf Beláks und Galambos und Schills Versuche, die unter anderen Versuchsbedingungen ausgeführt wurden, werden wir noch zurückkehren, auf ältere, mit mangelhafter Technik ausgeführte Versuche jedoch überhaupt nicht eingehen.

B. Rattenversuche.

Versuchseinrichtung. Diese Versuche (insgesamt 12 Versuchsreihen) wurden im Tanglschen kleinen Respirationscalorimeter ausgeführt; ihre Dauer betrug in der Regel ca. 6 Stunden; nur in wenigen Versuchen erstreckte sie sich bis zu 12 Stunden oder blieb auf 4 bis 5 Stunden beschränkt. Der Sauerstoffverbrauch konnte aus der Gewichtsveränderung des Tieres und dem Gewichte seiner flüssigen und gasförmigen Ausgaben mit großer Genauigkeit berechnet werden. Der Tierbehälter des Tanglschen Apparates wurde nämlich sowohl am Beginn wie am Ende des Versuches mit einer Genauigkeit von 0,01 g gewogen, und zwar am Ende des Versuches mitsamt dem Harn, der sich unter dem Paraffinöl am Boden des Behälters angesammelt hatte. Da in den Absorptionsgefäßen der gesamte Wasserdampf und das Kohlendioxyd — also nicht bloß die eines Teilstromes — aufgefangen und die kleinen Absorptionsgefäße auf einer analytischen Wage genau gewogen werden konnten, ist es klar, daß die Fehler, die einer Berechnung des Sauerstoffverbrauches sonst anhaften — und auch in den vorangehenden Hundeversuchen figurierten —, hier auf ein Minimum reduziert waren.

Der Sauerstoffverbrauch wurde gleichzeitig auch direkt bestimmt. Es muß aber hier gleich erwähnt werden, daß bei der recht komplizierten Art dieser Bestimmung, die so manche

[1]) l. c. Berechnet von uns auf Grund der Tabelle XV von Gr. L. im Anhang zu seiner Arbeit.

Quellen für Versuchs- und Ablesungsfehler birgt, das Ergebnis nicht immer ein befriedigendes war.

Um diese Bestimmungen ausführen zu können, wurde die Ventilationsluft mittels einer Rotationspumpe (rotatory blower) in einem geschlossenen Kreissystem zirkulierend erhalten.

In das System waren die Absorptionsgefäße für Wasserdampf und Kohlendioxyd (konz. Schwefelsäure und Natronkalk) eingeschaltet; in dasselbe System mündete auch seitlich das Austrittsrohr des Sauerstoffbehälters. Dieser bestand aus zwei Büretten, die abwechselnd benützt werden konnten und deren jede 10 kugelförmige Auftreibungen von je 50 cbm Fassungsraum trug. Die engen Zwischenstücke zwischen je zwei benachbarten Kugeln trugen aufgeätzte Kreismarken; der Raum zwischen je zwei Marken wurde natürlich sorgfältig kalibriert. Die Büretten standen in einer mit Wasser angefüllten Wanne, dessen Temperatur — nach gründlicher Durchmischung mittels eines kleinen Luftgebläses — bei jedem Ablesen genau notiert wurde, desgleichen auch der Stand eines Quecksilberbarometers. Der im System herrschende Druck wurde in einem Teil der Versuche mittels eines seitlich in das System einmündenden Ölmanometers, in einem anderen Teil der Versuche durch ein Spirometer angezeigt, das ebenfalls seitlich in das System einmündete. Der Zufluß des Sauerstoffs wurde so geregelt, daß der Druck im System stets derselbe geblieben war.

Da der Sauerstoff, der den Büretten aus den gewöhnlichen Druckflaschen zugeführt wurde, stets auch gewisse Mengen von Stickstoff enthielt, mußte im Laufe des Versuches im System eine Anreicherung an Stickstoff und eine entsprechende Verarmung an Sauerstoff stattfinden. Diesem Umstande wurde dadurch Rechnung getragen, daß dem System stets vor dem Beginn und am Ende des Versuches eine gewisse Menge Luft entnommen und im Haldaneschen kleinen Apparat analysiert wurde. (Hierbei werden 7 bis 8 cbm Luft analysiert.) Durch Berechnung aus dem Ergebnis dieser Analyse und dem in eigenen Versuchen bestimmten Fassungsraume des Systems konnte in einigen Versuchen gefunden werden, daß der Stickstoff am Ende des Versuches um genau soviel zugenommen hatte, als dem Zuwachs aus der Druckflasche entsprach. In anderen Versuchen wurde jedoch mehr gefunden, so daß undichte Stellen an derjenigen Seite des Systems vorhanden gewesen sein mußten, wo der Druck herabgemindert war, demzufolge ständig Luft in das System von außen hineingelangt ist. Aus der Menge des vorhandenen Stickstoffs konnte nun berechnet werden, wieviel Sauerstoff mit der Zimmerluft in das System eingedrungen war. Dieses Quantum, sowie ein dem Sauerstoffdefizit im System entsprechendes Quantum wurden als Plus zu der den Büretten entnommenen Sauerstoffmenge hinzuaddiert.

Es sei hier bemerkt, daß die direkte Bestimmung des Sauerstoffverbrauches auch in denjenigen Versuchsreihen (IX,

XI bis XVII) ausgeführt wurde, wo die Werte in die betreffenden Tabellen nicht eingetragen sind; wir mußten sie jedoch weglassen, da sie von groben Versuchsfehlern behaftet waren.

Der Energieumsatz wurde in allen Versuchsreihen direkt bestimmt, wozu auch die Menge der Ventilationsluft bekannt sein mußte.

Diese wurde in einigen Versuchsreihen an einer in das Kreissystem eingefügten kleinen Gasuhr abgelesen. In einer anderen Reihe wurde so verfahren, daß in einem eigens hierzu angestellten Versuch die Rotationspumpe aus der Verbindung mit dem System gelöst und mittels einer angeschlossenen Gasuhr auskalibriert wurde. Dies geschah einfach so, daß während einer längeren Zeitdauer der Stand eines, an der Achse der angetriebenen Rotationspumpe angebrachten Tourenzählers, sowie der der Gasuhr abgelesen wurde und so das Verhältnis zwischen Umdrehungszahl und Ventilationsgröße berechnet werden konnte. Sodann wurde die Pumpe ohne die Gasuhr wieder in das System eingeschaltet und im Tierversuch einfach die Tourenzahl abgelesen und hieraus die Ventilation berechnet.

In mehreren Versuchsreihen wurde der Energieumsatz auch aus den Zersetzungen berechnet. Da nicht daran zu denken war, eine Energiebestimmung in den winzigen Harnmengen auszuführen, die überdies noch mit viel Spülwasser verdünnt waren, mußten wir notgedrungen für das zersetzte Eiweiß den physiologischen Nutzeffekt in der Höhe von 4,1 kg-Cal. einsetzen.

Die Zuckerbestimmungen im Harn wurden nach Bertrands Methode ausgeführt.

Beschreibung der Versuche. Zu den Versuchen dienten nicht ganz ausgewachsene Exemplare von weißen Ratten. Injiziert wurde Mercksches, in 2 Versuchsreihen Kahlbaumsches Phlorizin. Die Lösung wurde jedesmal knapp vor der Injektion mittels einer 1%igen Lösung von kohlensaurem Natrium bereitet und das Tier innerhalb 10, 15 Minuten nach erfolgter Einspritzung in die Rückenhaut in das Calorimeter eingesetzt.

Versuchsreihe VII. Tier D. Beginn der Versuche am 2. Hungertag; am 3. Hungertag 1 ccm einer 2%igen Lösung eingespritzt.

Versuchsreihe VIII. Nach Abschluß vorangehender Versuche wurde Tier D weitergefüttert und etwa einen Monat später, nachdem es an Gewicht um mehr als die Hälfte zugenommen hatte, wieder hungern gelassen und zu den Versuchen verwendet. Am 3. Hungertag 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer 3,75%igen Lösung, desgleichen auch am 4. Hungertag.

Versuchsreihe IX. Dasselbe Tier D wird nun während drei Wochen regelmäßig gefüttert, wobei sein Gewicht unverändert bleibt. Dann wird ihm die Nahrung entzogen und die Versuche wieder begonnen. Am 3. Hungertag erhält es zwei Einspritzungen von je 1 ccm einer 5 %igen Lösung. Nach Abschluß dieser Versuche wird das Tier weitergefüttert.

Versuchsreihe X. Tier E. Beginn der Versuche am 1. Hungertag. Am 3. Hungertag zwei Einspritzungen von je 1 ccm einer 2,5 %igen Lösung.

Versuchsreihe XI. Tier E. wird 3 Wochen lang weiter gefüttert, wobei es um etwa ein Drittel an Gewicht zunimmt; dann werden am Hungertier die Versuche wieder aufgenommen und ihm am 3. Hungertag Phlorizin wie oben eingespritzt.

Versuchsreihe XII. Tier E wurde jetzt 3 Monate lang gefüttert, wobei es gegen 60 % seines Anfangsgewichtes ansetzte. Das kräftige Tier starb 24 Stunden später, nachdem ihm am 3. Hungertag 2 ccm einer 10 %igen Lösung von Phlorizin eingespritzt wurden.

Versuchsreihe XIII. Tier F; jüngeres Exemplar. Beginn der Versuche am 1. Hungertag. Am 3. Hungertag Einspritzung von 1 ccm einer 2 %igen Lösung. Das Tier wurde nach Abschluß dieser Versuche weitergefüttert, war zunächst noch ganz munter, jedoch nahm sein Gewicht allmählich ab, und es starb am ersten Tag einer 4 Wochen später begonnenen Versuchsreihe.

Versuchsreihe XIV. Tier G. Jüngeres Exemplar. Beginn der Versuche am letzten Hungertag. Am 3. Hungertag zwei Einspritzungen von je 1 ccm einer 2,5 %igen Lösung.

Versuchsreihe XV. Tier G wurde nun drei Wochen lang gefüttert, nahm an Gewicht um 30 % zu, dann wurde es hungern gelassen, und die Versuche begannen. Am 4. Hungertag Phlorizin wie oben. Nach Abschluß dieser Versuche wird das Tier weitergefüttert.

Versuchsreihe XVI. Tier H. Beinahe ausgewachsenes Exemplar. Beginn der Versuche am 1. Hungertag. Am 3. Hungertag Einspritzung von 1 ccm einer 0,25 %igen Lösung.

Versuchsreihe XVII. Tier H wurde nach Abschluß der vorangehenden Versuche 9 Tage lang gefüttert, wobei es an Gewicht nicht zunahm, dann wurden am 1. Hungertag die Versuche wieder aufgenommen. Am 4. Hungertag erhielt es 1 ccm einer 0,2 %igen Lösung eingespritzt. Nach Abschluß der Versuche wurde es weitergefüttert.

Versuchsreihe XVIII. Tier J, beinahe ausgewachsen, erhielt aus (S. 205) noch zu erwähnenden Gründen in Intervallen von je 48 Stunden 3,6, 4,1, 4,6, 5,0, 7,0 und 5,9 g des Fattingerschen Hundekuchens; an den dazwischen liegenden Hungertagen wurden die calorimetrischen Versuche ausgeführt. Vor dem 3. Versuch erhielt es 1 ccm einer 0,5 %igen Lösung von Phlorizin eingespritzt.

Die Versuchsergebnisse. Die Ergebnisse der an den Ratten ausgeführten Versuchsreihen sind in den nachfolgenden

Tabelle

Allgemeine Daten der Versuche

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Datum des Versuches	Wievielter Hungertag	Beginn des Versuches	Dauer des Versuches	Ventilation pro 24 Stunden	Mittlere Temperatur des Tierraumes	Gewicht des Tierbehälters mit dem Tier		Kör- tempe-
								am Beginn des Versuches	am Ende des Versuches	Am Beginn des Versuches
					Std.	l	°	g	g	°
VII.[3] Tier D.	26	30. V. 1913	2.	10h23′ vm.	7,79	828	22,8	292,15	290,11	—
	27	30. V. 1913	2.	6h51′ nm.	5,48	828	33,6	289,66	288,30	—
	28	31. V. 1913	3.	12h35′ nm.	6,33	828	23,8	301,97	300,49	—
	29	1. VI. 1913	4.	8h01′ vm.	4,99	828	24,1	291,06	289,99	—
VIII. Tier D.	30	5. VII. 1913	1.	8h45′ vm.	7,63	555	23,0	368,30	366,17	35,7
	31	6. VII. 1913	2.	9h15′ „	5,95	458	22,8	359,68	357,81	36,0
	32[1])	7. VII. 1913	3.	9h15′ „	6,45	420	23,4	340,90	339,28	36,6
	33[2])	8. VII. 1913	4.	10h15′ „	4,65	706	23,4	317,61	315,89	36,7
	34	9. VII. 1913	5.	8h05′ „	4,11	595	23,2	336,43	335,59	34,5
IX. Tier D.	35	28. VII. 1913	1.	8h20′ vm.	6,53	641	24,1	344,53	342,82	35,6
	36	29. VII. 1913	2.	9h45′ „	6,55	1511	24,3	341,05	339,63	35,4
	37	30. VII. 1913	3.	9h45′ „	5,58	1393	23,3	348,95	347,55	35,3
	38	31. VII. 1913	4.	8h30′ „	6,08	872	22,9	341,40	340,19	33,0
X. Tier E.	39[4])	20. VI. 1913	1.	12h01′ nm.	10,30	960	24,7	338,05	334,02	?
	40[4])	21. VI. 1913	2.	1h00′ „	10,25	1440	24,7	329,60	326,68	?
	41	22. VI. 1913	3.	1h20′ „	8,18	1270	24,3	324,16	321,06	37,5
	42	23. VI. 1913	4.	8h15′ vm.	12,10	2064	34,1	341,34	337,85	34,5 (?)
XI. Tier E.	43	15. VII. 1913	1.	8h00′ vm.	5,90	500	23,4	375,98	373,65	35,4
	44	16. VII. 1913	2.	8h15′ „	5,52	659	23,8	367,69	365,73	35,4
	45	17. VII. 1913	3.	8h00′ „	6,78	812	24,0	348,65	346,95	34,0
	46	18. VII. 1913	4.	9h15′ „	4,58	893	24,1	336,35	335,20	34,1
XII. Tier E.	47[5])	17. X. 1913	1.	6h00′ nm.	6,65	925	29,5	442,41	?	35,2
	48[5])	18. X. 1913	2.	1h10′ „	5,57	1104	29,7	422,43	?	35,8
	49	19. X. 1913	3.	10h30′ vm.	5,07	1113	29,2	395,53	393,20	33,8
	50	20. X. 1913	4.	—	—	—	—	—	—	—
XIII. Tier F.	51	25. XI. 1913	1.	2h15′ nm.	5,75	606	30,0	332,03	329,90	35,2
	52[6])	26. XI. 1913	2.	3h50′ „	6,47	1119	29,8	317,60	315,05	35,3
	53	27. XI. 1913	3.	9h15′ vm.	6,22	982	29,8	323,06	321,18	34,7
	54	28. XI. 1913	4.	1h10′ nm.	6,37	1304	29,6	317,65	316,10	35,0

[1]) Infolge mangelhafter Ventilation hatte sich Kondenswasser ge-
[2]) Infolge des Versagens eines Natronkalkturmes ist die CO_2-Be-
[3]) In dieser Versuchsreihe wurde die Körpertemperatur des Tieres
[4]) Körpertemperatur am Beginn des Versuches fehlt im Protokoll.
[5]) Am Ende des Versuches Paraffinöl vergossen; daher Berechnung
[6]) Körpertemperatur am Ende des Versuches fehlt im Protokoll.
[7]) Mit „M“ und „K“ ist die Provenienz des Phlorizins (Merck

VI.

im Respirations-Calorimeter.

per-ratur am Ende des Versuches	Mit der Ventilationsluft abgeführt CO_2	H_2O	O_2-Verbrauch berechnet	bestimmt	RQ aus dem berechneten O_2-Verbrauch	aus dem bestimmten O_2-Verbrauch	Phlorizin [7])	Bemerkungen
°	g	g	g	g			g	
—	1,979	2,049	1,99	2,046	0,723	0,700		
—	1,236	1,402	1,28	1,372	0,703	0,655		
—	1,386	1,900	1,41	1,408	0,715	0,716	0,02 (K)	
—	0,921	1,066	0,92	0,958	0,728	0,700		
35,9	2,583	2,066	2,52	2,534	0,743	0,739		Um 11h und 1h unruhig.
35,7	1,893	1,877	1,90	1,929	0,725	0,715		
32,6	1,529	—	—	—	—	—	0,075 (M)	
34,6	—	1,958	—	1,516	—	—	0,075 (M)	
35,0	1,008	0,857	1,02	1,003	0,718	0,731		Um 11h unruhig.
34,9	1,562	1,699	1,55	—	0,733	—		
34,9	1,495	1,448	1,52	—	0,715	—		
34,1	1,092	1,409	1,10	—	0,722	—	0,10 (K)	
32,9	1,335	1,162	1,29	—	0,753	—		
35,7	3,413	3,953	3,33	3,308	0,745	0,749		
36,3	2,875	2,919	2,87	2,802	0,729	0,747		
36,1	2,138	3,129	2,17	2,105	0,715	0,739	0,05 (K)	Um 4h und 9h unruhig.
36,3	3,015	3,523	3.04	3,098	0,720	0,708		
37,0	2,082	2,178	1,93	—	0,784	—		Um 1h unruhig.
35,3	1,622	1,960	1,62	—	0,727	—		
35,7	1,453	1,784	1,53	—	0.691	—	0,05 (M)	
34,1	1,020	1,138	1,01	—	0,734	—		
36,0	2,887	5,198	—	—	—	—		
36,0	2,159	4,538	—	—	—	—		
36,3	1,548	2,405	1,62	—	0,695	—	0,20 (M)	
—	—	—	—	—	—	—		Während des Versuches verendet.
36,3	1,630	2,055	1,55	—	0,765	—		
?	1,710	2,528	1,69	—	0,736	—		
35,2	1,421	1,871	1,41	—	0,732	—	0,02 (M)	
35,9	1,301	1,547	1,30	—	0,727	—		

bildet; daher war die Berechnung des O_2-Verbrauches unmöglich.
stimmung mißlungen.
nicht bestimmt.

des O_2-Verbrauches unmöglich.

resp. Kahlbaum) bezeichnet.

Tabelle VI

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Datum des Versuches	Wievielter Hungertag	Beginn des Versuches	Dauer des Versuches Std.	Ventilation pro 24 Stunden l	Mittlere Temperatur des Tierraumes °	Gewicht des Tierbehälters mit dem Tier: am Beginn des Versuches g	Gewicht des Tierbehälters mit dem Tier: am Ende des Versuches g	Kör-tempe-: Am Beginn des Versuches °
XIV. Tier G.	55	27. VI. 1913	1.	$11^h45'$ vm.	13,20	2149	23,8	293,56	290,34	36,0
	56	28. VI. 1913	2.	$1^h12'$ nm.	10,78	807	22,8	288,05	285,63	35,0
	57	29. VI. 1913	3.	$11^h05'$ vm.	8,05	786	22,2	279,48	277,79	35,3
	58	30. VI. 1913	4.	$12^h00'$ m.	6,33	700	22,4	278,60	277,56	35,6
XV. Tier G.	59	24. VII. 1913	2.	$9^h00'$ nm.	5,50	401	23,0	355,98	354,70	35,2
	60	25. VII. 1913	3.	$4^h30'$ vm.	6,33	624	23,1	335,76	333,92	35,2
	61	25. VII. 1913	3.	$1^h45'$ nm.	5,42	824	23,6	332,70	331,42	35,7
	62	26. VII. 1913	4.	$9^h15'$ vm.	6,02	782	23,5	320,32	318,85	35,5
	63	27. VII. 1913	5.	$7^h45'$ „	5,10	570	23,9	341,77	340,89	35,7
XVI. Tier H.	64	24. VII. 1913	1.	$8^h45'$ vm.	4,68	1417	29,9	340,89	338,62	35,0
	65	25. VII. 1913	2.	$12^h30'$ nm.	4,95	1425	29,5	328,14	326,60	35,3
	66	26. VII. 1913	3.	$12^h30'$ „	5,41	1448	29,6	316,90	315,20	35,4
	67	27. VII. 1913	4.	$12^h30'$ „	5,03	1403	29,8	311,68	310,34	34,7
XVII. Tier H.	68	5. I. 1914	1.	$8^h15'$ vm.	6,13	?	29,6	314,76	313,10	35,7
	69	6. I. 1914	2.	$9^h15'$ „	5,75	1442	29,3	307,80	306,24	34,8
	70	7. I. 1914	3.	$8^h30'$ „	6,27	1328	29,1	300,95	299,57	34,2
	71	8. I. 1914	4.	$10^h00'$ „	5,67	1424	28,9	289,85	288,60	34,0
XVIII. Tier J.	72	20. I. 1914	1.	$1^h15'$ nm.	6,25	1431	22,4	367,12	365,41	35,6
	73	22. I. 1914	1.	$9^h15'$ vm.	5,82	1465	22,8	358,10	356,48	35,5
	74	24. I. 1914	1.	$10^h45'$ „	7,07	1433	22,8	347,35	345,82	35,8
	75	26. I. 1914	1.	$2^h00'$ nm.	5,70	1520	23,0	342,65	341,30	35,4
	76	28. I. 1914	1.	$4^h45'$ „	5,30	1533	22,8	334,54	333,06	35,7
	77	30. I. 1914	1.	$6^h00'$ „	5,38	1613	22,2	336,72	335,80	36,8

Tabellen VI—VIII enthalten. In Tabelle VI sind die allgemeinen Daten der Versuche zusammengestellt; in Tabelle VII die Daten des N-, C-Umsatzes sowie die Berechnung der Wärmeproduktion aus den Zersetzungen (indirekte Calorimetrie); Tabelle VIII enthält die Daten der direkten calorimetrischen Bestimmungen.

Respiratorischer Quotient. Auffallend ist die überraschende Gleichmäßigkeit der RQ-en, die mittels des berechneten Sauerstoffverbrauchs erhalten wurden. Unter 47 Rattenversuchen findet sich nur in einem einzigen (71) der relativ hohe Wert von 0,846, der aus der Reihe der übrigen springt.

(Fortsetzung).

peratur	Mit der Ventilationsluft abgeführt		O_2-Verbrauch		RQ		Phlorizin	Bemerkungen
am Ende des Versuches	CO_2	H_2O	berechnet	bestimmt	aus dem berechneten O_2-Verbrauch	aus dem bestimmten O_2-Verbrauch		
°	g	g	g	g			g	
36,5	3,066	3,240	3,09	—	0,722	—		Um 6h unruhig.
36,3	2,463	2,409	2,45	—	0,731	—		
37,0	1,741	1,673	1,73	—	0,732	—	0,05 (M)	Um 4h unruhig.
35,7	1,180	0,994	1,13	—	0,759	—		Um 4h unruhig; um 5h sehr unruhig.
35,8	1,451	1,223	1,39	—	0,755	—		
35,6	1,527	1,865	1,55	—	0,716	—		Um 8h, 9h und 1h unruhig.
35,8	1,296	1,310	1,32	—	0,714	—		
35,2	1,320	1,486	1,34	—	0,716	—	0,05 (M)	
35,5	1,084	1,927	1,13	—	0,698	—		
36,0	1,363	2,167	1,26	—	0,787	—		
36,8	1,259	1,487	1,21	—	0,757	—		
36,4	1,268	1,652	1,22	—	0,756	—	0,0025 (M)	
35,8	1,101	1,351	1,11	—	0,721	—		Um 3h unruhig.
36,6	1,388	1,571	1,30	—	0,776	—		
36,5	1,235	1,508	1,18	—	0,762	—		
36,5	1,206	1,296	1,12	—	0,783	—		
35,5	1,013	1,103	0,87	—	0,846	—	0,002 (M)	
36,6	1,906	1,691	1,89	1,91	0,733	0,725		
36,1	1,719	1,601	1,70	1,71	0,735	0,731		
34,7	1,728	1,454	1,65	1,707	0,762	0,736	0,005 (M)	
35,9	1,210	1,339	1,20	1,289	0,733	0,683		
36,0	1,296	1,455	1,27	1,243	0,743	0,758		
35,5	1,103	0,866	1,05	1,092	0,764	0,735		

In den übrigen Normalversuchen schwankt der RQ meistens in den Grenzen zwischen 0,703 und 0,730, und nur einige Male steigt er noch etwas über 0,78. Es zeugt dies dafür, daß die Berechnung des Sauerstoffverbrauches — wenigstens unter den (S. 188) beschriebenen Versuchsbedingungen — eine höchst verläßliche ist, wie dort schon erwähnt war.

Ein Sinken des RQ unter 0,7 kam am Phlorizintag 2mal (Versuchsreihe XI und XII) zur Beobachtung; in der letzten Versuchsreihe fehlen allerdings die vergleichenden Werte der Normaltage. In Versuchsreihe XV trat das Sinken erst an dem der Einspritzung folgenden Tag auf. Daraus, daß in allen

Tabelle VII

24stündiger Stickstoff-, Kohlenstoffumsatz; Berechnung der 24stündigen Wärmeproduktion (indirekte Calorimetrie).

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Mittleres Körpergewicht g	N im Harn g	C-Ausfuhr im Harn[2]) g	C-Ausfuhr in dem ausgegeb. CO^2 g	C-Ausfuhr zusammen g	Körpereiweiß zersetzt g	Körperfett zersetzt g	Wärmeproduktion[5]) aus zersetztem Eiweiß kg-Cal.	Wärmeproduktion aus zersetztem Fett kg-Cal.	Wärmeproduktion zusammen kg-Cal.	Wärmeproduktion per 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht; kg-Cal	Bemerkungen
VII. Tier D.													Harn verloren.
VIII. Tier D.	30	163,13	0,075	0,100	2,207	2,307	2,47	2,68	1,93	25,19	27,12	166,2	
	31	152,23	0,075	0,100	2,082	2,182	0,47	2,52	1,93	23,66	25,59	168,1	
	32	143,82											1. Phlorizintag; Harn verloren.
	33[1])	133,88	0,188				1,18						2. " ; 0,39 g Harnzucker.
	34	127,86											Harn verloren.
IX. Tier D.	35	131,85	0,095	0,095	1,565	1,660	0,59	1,75	2,42	16,47	18,89	143,2	
	36	122,99	0,095	0,095	1,495	1,590	0,59	1,66	2,42	15,61	18,03	146,6	
	37	119,96	0,131	0,646	1,282	1,928	0,71	2,20	a) 2,91 b) 1,10	20,68	a) 23,59 b) 21,78	a) 196,6 b) 181,5	Phlorizintag; 0,48 g Harnzucker.
	38	112,49	0,281	0,179	1,436	1,615	1,76	0,90	7,21	8,47	15,68	139,4	
X. Tier E.	39	133,53	0,085				0,53						
	40	130,05	0,085				0,53						
	41	122,90	0,088				0,55						Phlorizintag; 0,23 g Harnzucker.
	42	119,53	0,077				0,48						
XI. Tier E.	43	167,05	0,072	0,098	2,340	2,438	0,45	2,86	1,85	26,89	28,74	172,0	
	44	158,85	0,072	0,098	1,924	2,032	0,45	2,33	1,85	21,94	23,79	149,7	
	45	141,41	0,112	0,318	1,403	1,721	0,70	1,76	a) 2,87 b) 2,00	16,54	a) 19,41 b) 18,54	a) 137,3 b) 131,5	Phlorizintag; 0,23 g Harnzucker.
	46	134,17	0,131	0,063	1,639	1,702	0,82	1,65	3,36	15,54	18,90	140,9	
XII. Tier E.													Harn verloren.

XIII. Tier F	51	133,06	0,081	0,095	1,853	1,948	0,51	2,19	2,09	20,55	22,64	172,3	
	52	126,16	0,081	0,095	1,730	1,825	0,51	2,03	2,09	19,05	21,14	167,5	
	53	121,55	0,166	0,356	1,495	1,851	1,04	1,70	a) 4,26 b) 3,02	15,98	a) 20,24 b) 19,00	a) 166,6 b) 156,4	Phlorizintag; 0,33 g Harnzucker.
	54	115,02	0,117	0,121	1,336	1,457	0,73	1,39	2,99	13,11	16,10	140,0	
XIV. Tier G.	55	100,58	0,088	0,046	1,520	1,566	0,55	1,66	2,25	15,60	17,85	177,5	
	56	93,92	0,088	0,046	1,495	1,541	0,55	1,63	2,25	15,31	17,56	186,9	
	57	90,62	0,076	0,463	1,416	1,879	0,48	2,12	a) 1,97 b) 0,88	19,92	a) 20,89 b) 19,80	a) 230,5 b) 218,5	Phlorizintag; 0,29 g Harnzucker.
	58	85,58	0,100	0,179	1,219	1,398	0,63	1,39	2,58	13,06	15,64	182,7	
XV. Tier G.	59[3])	128,04	0,064	0,075	1,728	1,803	0,40	2,07	1,64	19,45	21,09	164,8	
	60	123,89	0,064	0,075	1,579	1,654	0,40	1,88	1,64	17,64	19,28	155,6	
	61	120,85	0,064	0,075	1,565	1,640	0,40	1,86	1,64	17,47	19,11	158,1	
	62	117,03	0,059	0,197	1,435	1,632	0,37	1,87	a) 1,52 b) 0,28	17,59	a) 19,11 b) 17,87	a) 163,3 b) 152,7	Phlorizintag; 0,33 g Harnzucker.
	63	111,84	0,103	0,096	1,391	1,487	0,64	1,49	2,62	14,03	16,65	148,9	
XVI. Tier H.	64	143,34	0,104				0,65						
	65	130,62	0,104				0,65						
	66	122,72											Phlorizintag; Hämaturie; Harnzucker?
	67	116,29	0,136				0,85						
XVII. Tier H.													Harn verloren.
XVIII. Tier J.	72	140,65	0,078	0,292	1,995	2,287	0,49	2,64	2,01	24,83	26,84	190,9	
	73	133,04	0,078	0,292	1,934	2,212	0,49	2,56	2,01	24,06	26,07	196,0	
	74	125,43	0,084	0,445	1,600	2,045	0,53	2,30	a) 2,17 b) 0,74	21,62	a) 23,79 b) 22,36	a) 189,7 b) 178,8	Phlorizintag; 0,38 g Harnzucker.
	75	118,65	0,090	0,179	1,531	1,710	0,56	1,84	2,30	17,29	19,59	165,0	
	76	115,00	0,084	0,180	1,542	1,722	0,53	1,88	2,17	17,68	19,85	172,6	
	77[4])	105,36	0,104	0,180	1,342	1,522	0,65	1,54	2,67	14,43	17,10	162,2	

[1]) CO_2 verloren.
[2]) An Phlorizintagen nach Abzug des Kohlenstoffs im Harnzucker.
[3]) N- und C-Gehalt des Harns von den beiden nächsten Versuchen genommen.
[4]) C-Gehalt des Harns vom vorangehenden Versuch genommen.
[5]) Berechnung a) und b) siehe im Text auf S. 177.

Tabelle VIII.

24 stündige Wärmeproduktion (durch direkte Calorimetrie bestimmt).

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Mittleres Körpergewicht g	An das Calorimeter abgegeben kg-Cal.	Mit der Ventilationsluft abgeführt kg-Cal.	Verdampfungswärme des Wassers in der Ventilationsluft kg-Cal.	A Gesamte Wärmeabgabe kg-Cal.	Die Gewichts- und Temperaturveränderung des Tieres erfordert eine Korrektion von (B) kg-Cal.	Wärmeproduktion (A—B) kg-Cal.	Wärmeproduktion pro 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht kg-Cal.	Anmerkungen
VII[1]). Tier D.	26	99,78	19,41	0,47	3,73	23,61	?	23,61	236,6	
	27	97,74	17,15	0,51	3,63	21,29	?	21,29	219,0	
	28	92,35	15,61	0,46	3,36	19,43	?	19,43	210,4	Phlorizintag.
	29	87,02	12,85	0,42	3,03	16,30	?	16,30	187,3	
VIII. Tier D.	30	163,13	23,54	0,37	3,84	27,75	— 0,22	27,53	168,7	
	31	152,23	21,50	0,23	4,48	26,21	— 0,38	25,83	169,7	
	32[3])	143,82								1. Phlorizintag.
	33	133,88	16,03	0,36	5,98	22,37	— 1,69	20,68	154,5	2. Phlorizintag
	34	127,86	16,17	0,27	2,96	19,39	+ 0,11	19,50	152,6	
IX. Tier D.	35	131,85	16,32	0,33	3,69	20,34	— 0,53	19,81	150,2	
	36	122,99	15,84	0,86	3,14	19,84	— 0,74	19,09	155,2	
	37	119,96	13,19	0,71	3,58	17,49	— 0,90	16,59	138,3	Phlorizintag.
	38	112,49	14,09	0,43	2,71	17,23	— 0,41	16,82	149,6	
X. Tier E.	39	133,53	21,34	0,66	5,34	27,34	— 0,26	27,08	202,8	
	40	130,05	17,81	1,05	4,04	22,90	— 0,20	22,70	174,5	
	41	122,90	16,38	0,80	5,43	22,61	— 0,67	21,94	178,5	Phlorizintag.
	42	119,53	16,76	1,54	4,13	22,44	+ 0,13	22,57	188,8	
XI. Tier E.	43	167,05	21,58	0,37	5,24	27,19	+ 0,59	27,78	166,3	
	44	158,85	19,91	0,44	5,04	25,39	— 0,30	25,10	158,0	
	45	141,41	16,01	0,50	3,74	20,25	+ 0,50	20,75	146,8	Phlorizintag.
	46	134,17	17,01	0,49	3,53	21,03	— 0,16	20,86	155,5	
XII. Tier E.	47	214,42	18,52	0,58	11,10	30,20	— 0,51	29,69	130,5	
	48	200,56	19,72	0,51	11,69	31,92	— 0,45	31,47	156,9	
	49	190,75	15,94	0,66	6,74	23,33	+ 1,26	24,60	129,0	
	50									während des Versuches verendet.
XIII. Tier F.	51	133,06	18,72	0,26	5,08	24,06	+ 0,22	24,29	182,5	
	52[2])	126,16	15,67	0,57	5,55	21,79	?	21,79	172,7	
	53	121,55	14,35	0,45	4,27	19,08	— 0,14	18,93	155,8	Phlorizintag.
	54	115,02	12,60	0,54	3,45	16,58	+ 0,15	16,73	145,5	
XIV. Tier G.	55	100,58	14,49	1,21	3,48	19,19	— 0,10	19,09	189,8	
	56	93,92	14,70	0,39	3,17	18,26	+ 0,06	18,32	195,0	
	57	90,62	15,82	0,42	2,95	19,19	+ 0,06	19,25	212,4	Phlorizintag.
	58	85,58	13,63	0,30	2,23	16,16	— 0,17	15,98	186,8	

[1]) Die Körpertemperatur des Tieres wurde nicht gemessen.
[2]) Die Körpertemperatur des Tieres wurde am Ende des Versuches nicht gemessen.
[3]) Calorimetrie mißlungen.

Tabelle VIII (Fortsetzung).

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Mittleres Körpergewicht g	An das Calorimeter abgegeben kg-Cal.	Mit der Ventilationsluft abgeführt kg-Cal.	Verdampfungswärme des Wassers in der Ventilationsluft kg-Cal.	A Gesamte Wärmeabgabe kg-Cal.	Die Gewichts- und Temperaturveränderung des Tieres erfordert eine Korrektion von (B) kg-Cal.	Wärmeproduktion (A—B) kg-Cal.	Wärmeproduktion pro 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht kg-Cal.	Anmerkungen
XV. Tier G.	59	128,04	18,87	0,19	3,16	22,21	+ 0,15	22,36	174,7	
	60	123,89	15,98	0,30	4,18	20,46	— 0,24	20,23	163,3	
	61	120,85	15,67	0,44	3,45	19,54	— 0,12	19,43	160,8	
	62	117,03	15,06	0,35	3,50	18,92	— 0,65	18,27	156,1	Phlorizintag.
	63	111,84	14,50	0,25	2,58	17,33	— 0,21	17,12	153,1	
XVI. Tier H.	64	143,34	16,55	0,81	6,57	23,93	+ 0,16	24,08	168,0	
	65	130,62	16,35	0,60	4,27	21,22	+ 0,54	21,76	166,6	
	66	122,72	14,90	0,57	4,34	19,81	+ 0,15	19,96	162,6	Phlorizintag.
	67	116,29	14,66	0,47	3,81	18,94	+ 0,25	19,19	165,0	
XVII. Tier H.	68[1]	118,92								
	69	111,62	13,27	0,49	3,72	17,49	+ 0,39	17,88	160,2	
	70	104,36	11,44	0,39	2,93	14,76	+ 0,52	15,28	146,4	
	71	93,92	9,18	0,41	2,76	12,34	+ 0,35	12,68	135,1	Phlorizintag.
XVIII. Tier J.	72	140,65	23,02	0,68	3,84	27,54	+ 0,12	27,66	196,6	
	73	133,64	21,25	0,76	3,91	25,91	— 0,04	25,88	194,5	
	74	125,43	17,73	0,55	2,92	21,20	— 0,62	20,58	164,0	Phlorizintag.
	75	118,65	14,99	0,73	3,33	19,06	— 0,03	19,03	160,4	
	76	115,00	15,54	0,61	3,76	19,91	— 0,15	19,76	171,8	
	77	105,36	16,29	0,71	2,29	19,29	— 0,68	18,61	176,6	

übrigen Versuchsreihen der Quotient am Phlorizintage nicht kleiner wurde, läßt sich folgern, daß, wie zu erwarten war, bei einer einmaligen Phlorizineinspritzung es in der Regel bloß zu einer Ausschwemmung von Zucker und noch nicht zu einer Abspaltung desselben aus sauerstoffärmeren Verbindungen (Eiweiß oder Fett) gekommen war. Selbstverständlich folgt hieraus auch, daß der Quotient D : N hier noch nicht den bekannten konstanten Wert erlangt haben konnte.

Energieumsatz. Auch hier sollen zunächst die Ergebnisse der indirekten und direkten Calorimetrie, außerdem aber auch die Ergebnisse der Berechnung und direkten Bestimmung des Sauerstoffverbrauches verglichen werden (Tabelle IX). Da nicht in allen Versuchen sowohl die direkten als auch die indirekten

[1]) Calorimetrie mißlungen.

Tabelle IX.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Die indirekte Calorimetrie ergibt mehr (+), resp. weniger (−) als die direkte; in Prozenten des direkt erhaltenen Wertes	Die Berechnung des Sauerstoffverbrauches ergibt mehr (+), resp. weniger (−), als die direkte Bestimmung; in Prozenten des direkt erhaltenen Wertes
VII	26		− 3,0
	27		− 6,6
	28		± 0,0
	29		− 4,2
VIII	30	− 1,6	− 0,4
	31	− 0,9	− 2,1
	34		+ 2,0
IX	35	− 4,6	
	36	− 5,5	
	37 [1]	a) + 42,2 b) 31,2	
	38	− 6,8	
X	39		+ 0,6
	40		+ 2,5
	41		+ 3,3
	42		− 1,9
XI	43	+ 4,9	
	44	− 4,5	
	45 [1]	a) − 6,4 b) − 10,4	
	46	− 9,4	

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Die indirekte Calorimetrie ergibt mehr (+), resp. weniger (−) als die direkte; in Prozenten des direkt erhaltenen Wertes	Die Berechnung des Sauerstoffverbrauches ergibt mehr (+), resp. weniger (−), als die direkte Bestimmung; in Prozenten des direkt erhaltenen Wertes
XIII	51	− 5,6	
	52	− 3,0	
	53 [1]	a) + 6,9 b) + 0,4	
	54	− 3,8	
XIV	55	− 1,2	
	56	+ 1,3	
	57 [1]	a) + 8,5 b) − 2,9	
	58	+ 2,1	
XV	59	− 5,7	
	60	− 4,7	
	61	− 1,6	
	62 [1]	a) + 4,6 b) − 2,2	
	63	− 2,7	
XVIII	72	− 2,9	− 1,0
	73	+ 0,8	− 0,6
	74 [1]	a) + 15,7 b) + 9,0	− 3,5
	75	+ 2,9	− 7,0
	76	+ 0,5	+ 2,5
	77	− 8,1	− 3,7

Methoden ausgeführt wurden resp. gelungen sind, ist die Anzahl der vergleichbaren Daten, namentlich bezüglich des Sauerstoffverbrauches eine beschränkte.

Hier muß nun gleich bemerkt werden, daß einer richtigen Berechnung der Wärmeproduktion aus den Zersetzungen an den Phlorizintagen kaum überwindliche Schwierigkeiten im Wege stehen.

1. Zunächst ist es klar, daß insofern, als Zucker aus Eiweiß abgespalten wird und dieser in den Harn übergeht, der physiologische Nutzeffekt des Eiweißes, dessen N im Harn erscheint, nicht in seiner Gänze in Rechnung gestellt werden darf. Dementsprechend wird man im protrahierten Phlorizindiabetes, wo der Quotient D : N konstant geworden ist, und wo man das Recht hat, allen Zucker als von Eiweiß abgespalten anzusehen,

[1] Berechnung a) und b) siehe im Text S. 177.

Tabelle X.

Eiweißzersetzung, Sauerstoffverbrauch (berechnet) und Wärmeproduktion (direkt bestimmt) pro 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Eiweißzersetzung g	Sauerstoffverbrauch (berechnet) g	Wärmeproduktion direkt bestimmt kg-Cal.	Veränderung der Eiweißzersetzung %	Veränderung des Sauerstoffverbrauches %	Veränderung der Wärmeproduktion (direkt bestimmt) %	Phlorizin pro 1 kg Körpergewicht g
VII. Tier D.	26		59,3 } 58,4	236,6 } 227,8				
	27		57,6	219,0				
	28		57,9	210,4		− 0,9	− 7,6	0,22
	29		50,9	187,3		− 12,9	− 17,7	
VIII. Tier D.	30	2,98	48,6 } 49,4	168,7 } 169,2				
	31	2,98	50,3	169,7				
	32							0,52
	33	8,81		154,5	+ 195		− 8,7	0,56
	34		46,6	152,6		− 5,7	− 9,8	
IX. Tier D.	35	4,65	43,2 } 44,3	150,2 } 152,7				
	36	4,65	45,3	155,2				
	37	5,92	39,4	138,3	+ 27	− 11,1	− 9,4	0,83
	38	15,65	45,3	149,6	+ 237	+ 2,2	− 2,0	
X. Tier E.	39	4,02	57,0 } 54,3	202,8 } 188,6				
	40	4,02	51,7	174,5				
	41	4,47	51,8	178,5	+ 11	− 4,6	− 5,4	0,41
	42	4,02	50,4	188,8	0	− 7,2	0	
XI. Tier E.	43	2,76	47,0 } 45,6	166,3 } 162,1				
	44	2,76	44,3	158,0				
	45	4,95	38,3	146,8	+ 79	− 16,0	− 9,4	0,35
	46	6,11	39,4	155,5	+ 121	− 13,6	− 4,1	
XII. Tier E.	47			138,5 } 147,7				
	48			156,9				
	49			129,0			− 12,7	1,05
XIII. Tier F.	51	3,93	48,6 } 48,6	182,5 } 177,6				
	52	3,93	48,6	172,7				
	53	8,56	44,8	155,8	+ 118	− 7,8	− 12,3	0,17
	54	6,35	42,6	145,5	+ 62	− 12,8	− 18,1	
XIV. Tier G.	55	5,65	55,9 } 57,0	189,8 } 192,4				
	56	5,65	58,1	195,0				
	57	5,30	55,6	212,4	− 6	− 2,5	+ 10,4	0,55
	58	7,36	49,5	186,8	+ 30	− 13,2	− 2,9	
XV. Tier G.	59		47,6	174,7				
	60	3,27	47,4 } 47,8	163,3 } 166,3				
	61	3,27	48,4	160,8				
	62	3,17	45,6	156,1	− 3	− 4,6	− 6,1	0,43
	63	5,72	47,6	153,1	+ 75	− 0,5	− 7,9	

Tabelle X (Fortsetzung).

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Eiweißzersetzung g	Sauerstoffverbrauch (berechnet) g	Wärmeproduktion direkt bestimmt kg-Cal.	Veränderung der Eiweißzersetzung %	Veränderung des Sauerstoffverbrauches %	Veränderung der Wärmeproduktion direkt bestimmt %	Phlorizin pro 1 kg Körpergewicht g
XVI. Tier H.	64	4,74 }	45,1 } 45,0	168,0 } 167,3				
	65	4,74 }	44,9 }	166,6 }				
	66	7,25	44,1	162,6	+ 53	− 2,0	− 2,8	0,02
	67	7,31	45,5	165,0	+ 54	+ 1,0	− 1,4	
XVII. Tier H.	68		42,8					
	69		44,1 } 42,6	160,2 } 153,4				
	70		41,1 }	146,4 }				
	71		39,2	135,1		− 8,0	− 11,9	0,02
XVIII. Tier H.	72	3,58 }	51,6 } 52,1	196,6 } 195,5				
	73	3,58 }	52,7 }	194,5 }				
	74	4,23	44,6	164,0	+ 18	− 14,4	− 16,1	0,04
	75	4,72	42,6	160,4	+ 32	− 18,2	− 17,9	
	76	4,61	48,2	171,8	+ 29	− 7,5	− 12,1	
	77	6,17	44,5	176,6	+ 72	− 14,6	− 9,7	

offenbar zu annähernd richtigen Werten gelangen, wenn man von dem physiologischen Nutzeffekt des Eiweiß den Energiegehalt des Harnzuckers abzieht. Handelt es sich jedoch bloß um eine einzige Phlorizingabe, wie in den hier mitgeteilten Versuchen, wo ein wechselnder, jedenfalls aber unberechenbarer Anteil des Zuckers einfach aus dem Körper ausgeschwemmt, jedoch nicht aus Eiweiß abgespalten wurde, so wird, wenn man den Energiegehalt des gesamten Harnzuckers in Abzug bringt, das Resultat je nach den obwaltenden Umständen annähernd richtig oder aber viel kleiner ausfallen als der Wirklichkeit entspricht.

2. Noch schwieriger gestaltet sich jedoch die Berechnung der Wärmeproduktion aus folgendem Grunde. Wie der Tabelle VIII zu entnehmen ist, stand die C-Ausscheidung im Harn an den Normaltagen in dem — allerdings stark schwankenden — Verhältnis zur Stickstoffausscheidung, wie dies auch sonst in den weit häufigeren Hundeversuchen zu beobachten ist. Am Phlorizintag hingegen ist der C-Gehalt des Harns auch nach Abzug des auf den Harnzucker entfallenden Anteiles so groß, daß es sich hier unmöglich bloß um sog. Eiweiß- und Fett-C

handeln kann. Ein ganz bedeutendes Plus muß von organischen Verbindungen anderer Art herrühren, die sich dem Harn beigemischt haben. Sicherlich zum allergeringsten Teil besteht dieses Plus aus dem C-Gehalt des Phlorizins, das nach der Erfahrung vieler Autoren verhältnismäßig rasch im Harn ausgeschieden wird; der größere Anteil dürfte von Produkten nicht vollständiger Oxydation, wie etwa Acetonkörpern, herrühren, die man in der Phlorizinvergiftung meistens nicht vermißt. Wie dem immer sei, das eine ist klar, daß infolge dieses Plus an C im Harn die berechnete Wärmeproduktion größer sein muß als der Wahrheit entspricht.

Wir haben in Tabelle IX die Berechnung des Energieumsatzes a) nach Abzug des auf den Harnzucker entfallenden C aus dem gesamten C so ausgeführt wie an den Normaltagen und für zersetztes Eiweiß den physiologischen Nutzeffekt in der Höhe von 4,1 kg-Cal. in Rechnung gestellt; b) andererseits allen Zucker als aus Eiweiß abgespalten betrachtet und den Energiegehalt des Harnzuckers noch vom physiologischen Nutzeffekt des Eiweißes abgezogen. Eine Bestimmung des C, der etwa von Phlorizin, Acetonkörpern usw. herrührt, haben wir infolge der technischen Schwierigkeiten, die sich in dem stark verdünnten Harn ergeben hätten, nicht ausgeführt, also auf eine entsprechende Korrektion verzichten müssen. [Die nach a) und b) berechneten Werte sind in Tabelle VII in den betreffenden Stäben sub a) und b) aufgenommen].

Da die obenerwähnten beiden Fehlerquellen das Resultat in entgegengesetzten Richtungen beeinflussen, ist es verständlich, daß je nach der Art der Berechnung das Ergebnis größer oder kleiner als der durch direkte Calorimetrie erhaltene Wert ausfällt, resp. daß man zuweilen, wenn sich die Fehler zufällig kompensieren, gut übereinstimmende Werte erhält.

Hingegen stimmen die an den Normaltagen erhaltenen Werte der berechneten Wärmeproduktion mit der direkt bestimmten — mit wenigen Ausnahmen — recht gut überein und sind geeignet, die Basis der Folgerungen, die weiter unten aus den Ergebnissen der direkten Calorimetrie gezogen werden sollen, zu stärken. (Die Ergebnisse der indirekten Calorimetrie an den Phlorizintagen können aus obigen Gründen natürlich nicht verwendet werden.)

Zu einer richtigen Übersicht der Versuchsergebnisse gelangt man erst nach der Reduktion der für den Sauerstoffverbrauch, für die Wärmeproduktion und für die Eiweißzersetzung erhaltenen Werte auf die Einheit des Körpergewichtes (Tabelle X), besonders in den Versuchen an solch kleinen Tieren, die bei ihrem überaus regen Stoffwechsel im Laufe einer Versuchsreihe meistens über 20 % ihres Anfangsgewichtes einbüßten. (Die Hunde verloren nur 7 bis 14 %).

Aus den Daten der Tabelle X ist ohne weiteres ersichtlich, daß die Wärmeproduktion am Tage der Phlorizineinspritzung um 3 bis 16 % herabgesetzt ist, und zwar trifft dies für 11 von den 12 an Ratten ausgeführten Versuchsreihen zu. Die Verringerung ist in manchen Versuchsreihen an dem der Einspritzung folgenden Tag noch bedeutender als am Phlorizintag selbst. (Nebenbei sei bemerkt, daß es keinen Unterschied ausmachte, ob Mercksches oder Kahlbaumsches Phlorizin verwendet wurde, ferner, ob die Versuche bei einer Außentemperatur von 23 bis 24 oder ca. 29° angestellt wurden).

Der Abnahme der Wärmeproduktion geht in der Regel eine Abnahme des Sauerstoffverbrauches parallel; freilich gibt es da zuweilen auch Divergenzen.

Gegen diesen Befund könnte man in einigen Versuchsreihen (VII, X, XI, XIII, XV, XVII) mit dem Scheine einiger Berechtigung einwenden, daß eine Abnahme bereits am Tage vor der Phlorizineinspritzung stattfindet, daß also am Phlorizintag nur eine weitere Abnahme stattfindet, wie sie an Hungertieren oft beobachtet wird, ohne daß hierbei eine Spezialwirkung des Phlorizins vorläge.

Nun ist es aber bekannt, daß der stärkste Abfall im Energieumsatz am 1. Hungertag einzutreten pflegt, zuweilen ein weiterer noch am 2. Hungertag folgt, dann aber die auf 1 kg Körpergewicht reduzierten Werte nahezu konstant bleiben und erst im protrahierten Hungerzustand wieder ein Abfall einsetzt. Übrigens stehen uns speziell vom 3. Hungertag, der uns hier besonders interessiert, einige auf kleine Tiere bezügliche Daten zu Gebote. So betrug die Wärmeproduktion pro 24 Stunden und 1 kg in kg-Cal.

	Ratte[1])	Ratte[2])	Maus[3])
1. Hungertag	143,5	246,6	475,1
2. „	155,2	220,8	439,9
3. „	147,5	236,2	465,1

Aber hiervon gänzlich abgesehen, lassen sich obigen Versuchsreihen andere (VIII, IX, XII, XVIII) gegenüberstellen, in denen der Abfall tatsächlich erst am Phlorizintage erfolgt; weiterhin soll, was besonders beweisend ist, auf den wichtigen Umstand hingewiesen werden, daß in einigen Versuchsreihen (IX, X, XI, XIV, XVIII), der Energieumsatz an dem der Einspritzung folgenden Tag wieder angestiegen ist.

Von geradezu entscheidender Bedeutung war diesbezüglich die Versuchsreihe XVIII, in der das Tier J, um die etwa störende Einwirkung des Hungerzustandes zu vermeiden, an jedem zweiten Tag gefüttert und an den dazwischenfallenden Hungertagen, also quasi jedesmal am 1. Hungertag calorimetrisch untersucht wurde. Hier trat die durch das Phlorizin hervorgerufene Verringerung des Energieumsatzes mit äußerster Schärfe hervor, desgleichen auch desto allmählicher Wiederanstieg.

C. Besprechung der an Hunden und Ratten erhaltenen Versuchsergebnisse.

Es wurde sub A. und B. gezeigt, daß die an Hunden und Ratten angestellten Versuche bezüglich des Energieumsatzes zu einem durchaus verschiedenen Ergebnis geführt hatten; dort zu einer Steigerung, die auch von den meisten anderen Autoren konstatiert wurde, hier zu einer Verringerung des Energieumsatzes. Dieser auffallende Befund bedarf einer eingehenden Besprechung.

Zunächst ließe sich daran denken, daß durch kleine Dosen des Giftes (ca. 0,05 g pro 1 kg), die den Hunden beigebracht wurden, der Energieumsatz gesteigert, durch größere Dosen (bis zu 1 g), die in den Rattenversuchen in Anwendung kamen, verringert wird. Dieser Annahme widersprechen aber die S. 187

---

[1]) F. Tangl, Calorimetrie der Nierenarbeit. Diese Zeitschr. **53**, 39, 1913. Versuchsreihe VI.

[2]) P. Hári, Weiterer Beitrag zur Kenntnis der Wirkung der Kohlenhydrate auf den Energieumsatz. Ibid. S. 119. Versuchsreihe I.

[3]) P. Hári, bisher nicht veröffentlichte Versuche.

erwähnten Befunde der Autoren, die 0,70 g in 48 Stunden (Rubner), 0,24 g (Mandel und Lusk, Hund II), 0,12 g (Lusk, Hund II) pro 1 kg Körpergewicht injiziert haben, also Dosen, die in den Rattenversuchen den Energieumsatz herabsetzten, an Hunden hingegen um 7 resp. 24 resp. 10% steigerten. (Eine minimale Verringerung des Energieumsatzes fand allerdings an Mandel und Lusks Hund I statt, der mehr als 1 g Phlorizin erhalten hatte, eine stärkere in Beláks sowie in Galambos und Schills noch zu erwähnenden Versuchen, in denen 0,20 bis 0,40 g injiziert wurden.)

Ganz hinfällig wird obige Annahme, wenn man die Daten der Rattenversuche näher besieht, in denen sehr verschiedene Mengen (0,02 bis über 1 g pro 1 kg) eingespritzt wurden. Speziell am wichtigsten fallen hier ins Gewicht die 3 letzten Rattenversuchsreihen, in denen die Dosis kleiner (Versuchsreihe XVIII) war, resp. kaum die Hälfte (Versuchsreihe XVI und XVII) der bei den Hunden angewendeten Dosis betrug und doch eine ansehnliche Annahme des Energieumsatzes stattfand. Der Energieumsatz ist also insofern unabhängig von der relativen Menge des beigebrachten Giftes, als er durch Dosen derselben Größenordnung am Hund gesteigert, an der Ratte jedoch verringert wird. Noch auffallender ist das Verhalten des Energieumsatzes, wenn dieser an einem und demselben Tier unter der Einwirkung verschieden großer Giftmengen untersucht wird: Ratte D hatte in den Versuchsreihen VII resp. VIII resp. IX 0,22 resp. 0,56 resp. 0,83 g Phlorizin pro 1 kg erhalten, und doch nahm seine Wärmeproduktion (direkt bestimmt) in allen 3 Versuchsreihen am Phlorizintag überraschend gleichmäßig ab. Umgekehrt finden wir, daß der Energieumsatz von Tier H nach derselben Dosis von 0,02 g pro 1 kg in Versuchsreihe XVI um 2,8, in Versuchsreihe XVII hingegen um 11,9% abgenommen hat. Von der Menge des eingespritzten Giftes hängt es demnach nicht ab, ob der Energieumsatz gesteigert oder verringert wird.

Die Steigerung der Wärmeproduktion phlorizinvergifteter Hunde wird von den Autoren dem stark gesteigerten Eiweißzerfall zugeschrieben; ein solcher ist tatsächlich in allen — auch

in den hier mitgeteilten — Hundeversuchen zu sehen. Wir wollen nun sehen, ob da tatsächlich ein kausaler Zusammenhang besteht?

In seiner viel zitierten Versuchsreihe ist Rubner[1]) zu dem später von Lusk bestätigten Schluß gekommen, daß das Plus des eingeschmolzenen Eiweiß es ist, wodurch der Energieumsatz gesteigert wird, und zwar soll letzterer entsprechend je 100 Cal. aus zersetztem Eiweiß (wenn man mit dessen physiologischem Nutzeffekt rechnet) um je 32 Cal. zunehmen.

Zu diesem Ergebnis kam Rubner durch folgende Berechnung. Der Hungerumsatz seines Hundes betrug an 2 Normaltagen 499 resp. 456, also im Durchschnitt 478 kg-Cal., an 2 Phlorizintagen 500 und 520, also im Durchschnitt 510 kg-Cal. Die Berechnung der Wärmeproduktion erfolgte aus dem N- und gesamten C-Umsatz, indem an den Normaltagen pro 1 g Harn-N 25 kg-Cal. ($= 1 \times 6,25 \times 4$), pro 1 g Fett-C ca. 12 kg-Cal. in Rechnung gebracht wurden. An den Phlorizintagen nimmt Rubner an, daß aller Zucker aus Eiweiß abgespalten wurde, demzufolge der Energiegehalt des Harnzuckers aus dem physiologischen Nutzeffekt des Eiweiß noch abgerechnet werden muß. Nun schließt Rubner weiter: Das Plus an Wärmeproduktion an den Phlorizintagen beträgt durchschnittlich $510 - 478 = 32$ kg-Cal., und dieses Plus entsteht, weil am Phlorizintag durchschnittlich 42,8 g Eiweiß zersetzt wurden, während an den Normaltagen es bloß 17,5 g waren. Es wurden daher am Phlorizintag um 25,3 g Eiweiß mehr zersetzt, welchem Plus ein spezifischer Nutzeffekt von 101 kg-Cal. entspricht (Rubner rechnet 4 kg-Cal. pro 1 g Eiweiß). Demzufolge wird der Energieumsatz um 32 kg-Cal. gesteigert, wenn aus Eiweißzersetzung 100 kg-Cal. entstehen.

Graham Lusk[2]) kommt durch Berechnung eines in Gemeinschaft mit Arthur A. Mandel[3]) ausgeführten Versuches zum selben Ergebnis, indem „je 100 Cal., die von Eiweißverbrennung herrühren, von einer Vermehrung der Wärmeproduktion um 29 Cal. begleitet" sind, und fügt hinzu: dieser Versuch stimmt genau mit dem von Rubner überein.

„Übereinstimmungen" sind jedoch nur in dem Falle von Wert, wenn die Art der Berechnung dieselbe ist, was hier durchaus nicht der Fall ist. Die Wärmeproduktion wird allerdings aus dem N- und C-Umsatz mit Hilfe derselben Konstanten, wie Rubner sie verwendet, berechnet, wobei sich für den Normaltag 721, für den Phlorizintag 1030 kg-Cal. ergeben. (Dabei ist zu bemerken, daß sich letzterer Wert nur erhalten läßt, wenn man für den Harn-N den auf S. 51 der Original-Mitteilung angegebenen Wert von $7,31 + 7,14 = 14,45$ verwendet, jedoch nicht den

[1]) l. c.

[2]) Graham Lusk in Asher-Spiros Ergebnissen der Physiologie, Jahrg. XII, S. 374.

[3]) l. c.

auf S. 55 irrtümlich angegebenen Wert von 15,5 g, der in dieser falschen Form auch in Lusks Abhandlung in den Ergebnissen, S. 374, hinübergenommen ist.) Von 1030 kg-Cal. sind für den im Harn ausgeschiedenen Zucker 51,6 × 3,77 = 195 kg-Cal. in Abzug zu bringen, so daß die Wärmeproduktion, wie in der Originalmitteilung und bei Lusk angegeben ist, 835 kg-Cal. beträgt.

Nun ist nach Rubner folgendermaßen weiter zu rechnen: das Plus von 835 — 721 = 114 kg-Cal. wird erzeugt, wenn gleichzeitig um 14,45 — 4,14 = 10,3 mehr N im Harn erscheinen, also um 64,4 g mehr Eiweiß zersetzt wird, denen nach Rubner 64,4 × 4 = 258 kg-Cal. entsprechen. Auf diese Weise ergibt sich, daß durch 100 kg-Cal. aus zersetztem Eiweiß die Wärmeproduktion um 114 : 2,58 = 44 kg-Cal. gesteigert wird. Das ist nun ein ziemlicher Unterschied gegen 32 kg-Cal. nach Rubner, jedenfalls keine „genaue Übereinstimmung".

Das mit der Rubnerschen Zahl übereinstimmende Resultat von 29 kg Calorien ist so entstanden, daß Lusk mit dem obenerwähnten falschen N-Wert von 15,5 statt 14,5 g, also mit einem um 1 g höheren Zuwachs rechnet und überdies nicht den physiologischen Nutzeffekt in Rechnung setzt, sondern 5,56 kg-Cal., also einen Wert, der den vollen Gehalt des Eiweiß an chemischer Energie (spezifischer Energiegehalt) sehr nahe kommt.

Es läßt sich jedoch an der Hand der in unserer Mitteilung veröffentlichten Hundeversuche nachweisen, daß auch die relative Übereinstimmung zwischen dem Rubnerschen Wert (32 Cal.) und dem richtiggestellten Luskschen Wert (44 Cal.) bloß eine zufällige ist, und diese Werte nicht im entferntesten als Standardwerte anzusehen sind. Führen wir nämlich dieselbe Berechnung in unseren Hundeversuchen aus, wobei selbstverständlich für die Wärmeproduktion die weit verläßlicheren, durch direkte Calorimetrie erhaltenen Werte verwendet wurden, so ergibt sich aus den Daten der Tabellen II und III folgender Zusammen-

	Plus an zersetztem Eiweiß g	Physiolog. Nutzeffekt[1]) des verbrannten Eiweißplus kg-Cal.	Zunahme der Wärmeproduktion kg-Cal.
I. 1. Phlorizintag	5,0	20,5	**49,2**
I. 2. „	11,0	45,1	**73,3**
II.	8,1	33,2	**63,2**
III.	12.7	52,1	**48,2**
IV.	12,8	52,5	**120,5**

[1]) Wir rechnen hier mit dem allgemein angenommenen Wert von 4,1 kg-Cal. pro 1 g Eiweiß.

hang zwischen dem Zuwachs im Eiweißzerfall und in der Wärmeproduktion am Phlorizintag gegenüber den Mittelwerten von den vorangehenden Normaltagen.

Man sieht, daß hier auf 100 Eiweißcalorien ein unverhältnismäßig größeres Wärmeplus als in Rubners und auch in Graham Lusks Versuchen entfällt, und zwar 240 und 163 (Versuchsreihe I) resp. 190 (Versuchsreihe II) resp. 93 (Versuchsreihe III) resp. 230 (Versuchsreihe IV) kg-Cal.

Man wird also nicht fehlgehen, wenn man den Rubnerschen Befund von 32 Cal. Steigerung des Energieumsatzes pro 100 Cal. aus zersetztem Eiweiß als einen vereinzelten Befund ansehen und diesen nicht verallgemeinern wollen wird.

Einen Zusammenhang zwischen zunehmendem Eiweißzerfall und Steigerung des Energieumsatzes wird man allerdings zunächst noch annehmen können, wenn man die Werte in obiger Zusammenstellung betrachtet; in Versuchsreihe I, II und IV ist das Verhältnis Wärmeplus : Eiweißplus ein recht konstantes (7—10). Aber bereits in Versuchsreihe III ist die so berechnete Verhältniszahl eine abweichende. Wesentlich erschüttert wird die Richtigkeit obiger Annahme, wenn man die Ergebnisse der Versuchsreihen V und VI betrachtet, die allerdings streng genommen nicht hierher gehören, da in diesen Versuchen Phloretin — nicht Phlorizin — injiziert wurde, die aber bezüglich des Zusammenhanges zwischen gesteigerter Wärmeproduktion und erhöhtem Eiweißzerfall wohl mit den Phlorizinversuchen verglichen werden können. Es stellte sich heraus, daß durch relativ geringe Dosen des Phloretins (ca. 0,3 g pro 1 kg Körpergewicht) der Eiweißzerfall in beiden Versuchen sehr ansehnlich, ungefähr so wie durch das Phlorizin gesteigert wird; der Energieumsatz jedoch in Versuchsreihe V stark, in Versuchsreihe VI aber kaum erhöht ist.

Vollends unhaltbar wird obige Annahme eines kausalen Zusammenhanges, wenn wir die Ergebnisse der Rattenversuche betrachten. Der Eiweißzerfall ist auch hier erhöht, bisweilen sogar stärker als in den Hundeversuchen, bisweilen weniger stark. Diese Unregelmäßigkeit läßt sich jedoch zwanglos aus der Unmöglichkeit erklären, den Harn der Ratten täglich so abzugrenzen, wie dies an den Hunden durch Katheter und Blasenspülung geschieht; daher es zu einer Retention von Harn

und zu einer starken Verzerrung im Bilde des zeitlichen Verlaufes der Eiweißzersetzung kommen kann.

Wenn aber das Phlorizin an Ratten zu dem gleichstarken Eiweißzerfall führt wie an Hunden, gleichzeitig jedoch zu einem Sinken des Energieumsatzes — der am Hund wesentlich gesteigert ist —, kann ein kausaler Zusammenhang zwischen erhöhter Eiweißverbrennung und der Veränderung im Energieumsatz wahrlich nicht bestehen!

Man könnte allerdings behaupten, — ohne hierdurch die Frage einer Lösung nähergebracht zu haben —, daß die Hunde- und Rattenversuche aus dem Grunde nicht zu vergleichen wären, weil im letzteren Falle größtenteils erheblich größere, vielleicht toxisch wirkende Dosen des Phlorizins verwendet wurden. Auch dieser Einwand läßt sich jedoch leicht entkräften. Denn einerseits wurde bereits ausgeführt, daß Dosen von 0,70 g pro 48 Stunden den Energieumsatz des Hundes steigern, Dosen von 0,04 bis hinunter zu 0,02 pro 1 kg den der Ratten herabsetzen können. Andererseits muß hervorgehoben werden, daß — abgesehen von Ratte E, die im 48. Versuch die überaus große Dosis von über 1 g pro 1 kg injiziert erhielt und tags darauf starb —, die Tiere in allen übrigen Versuchen auch nach Einverleibung des Giftes munter blieben und nach Abschluß des darauf folgenden Normalversuches von dem vorgelegten Futter gierig fraßen. Wenn man trotzdem behaupten wollte, — was sich für manche Versuchsreihen am Ende wohl behaupten ließe — daß die Ratten, wenn auch nur vorübergehend, für die kurzen Stunden der Versuchsdauer sich im Zustande einer Intoxikation befanden, kann dies keineswegs von Ratte J gesagt werden, die bloß 0,04 g Phlorizin pro 1 kg erhielt, also ungefähr so viel wie die Hunde, noch weniger von Ratte H in Versuch 71, die gar nur 0,02 g pro 1 kg bekommen hatte. Und doch war in diesen beiden Fällen der Energieumsatz am Phlorizintag um 12 resp. 16% verringert!

Aber auch zugegeben, daß eine vorübergehende Intoxikation vorgelegen hat, — was ja nach dem Gesagten nicht der Fall war — auch zugegeben, daß demnach ein wirklich „toxischer“ Eiweißzerfall vorliege, hat man keineswegs das Recht, diesen Eiweißzerfall in seinen Konsequenzen auf den Energieumsatz als prinzipiell verschieden von dem Eiweißzerfall anzusehen, der

am Hunde zustande kommt. Es ist doch nicht denkbar, daß der Eiweißzerfall an sich in der einen Tierart zur Steigerung, in einer anderen zu einem Abfall der Wärmeproduktion führt.

Die Ursache der Veränderung im Energieumsatz wird man demnach anderswo suchen müssen, um speziell das verschiedene Verhalten in der Wärmeproduktion von Hunden und Ratten als eine artindividuelle Reaktion ansehen können, die sich bald in einer Steigerung (am Hund), bald in einem Abfall (an der Ratte) der Wärmeproduktion äußert.

Daß Belák[1]), ferner Galambos und Schill[2]) an ihren curaresierten Hunden in mehreren Versuchen (B.) resp. in allen 3 reinen Phlorizinversuchen (G. und Sch.) einen Abfall des Energieumsatzes gefunden haben, steht mit den hier mitgeteilten Befunden und denen der übrigen erwähnten Autoren, sowie auch mit obiger Annahme einer arteigenen Reaktion darum nicht in Widerspruch, weil curaresierte Tiere sich ja wesentlich anders als normale verhalten können. Insbesondere gilt dies von Beláks Versuchen, die mit den bisher besprochenen schon aus dem Grunde nicht verglichen werden können, da das Phlorizin intravenös eingebracht wurde, bei dieser Applikationsweise aber unberechenbare Unterschiede in der Wirkung möglich sind. Sehr auffallend in Beláks Versuchen ist der Umstand, daß der stärkste Abfall im Energieumsatz von einem starken Sinken des Blutdruckes begleitet wird; ferner, daß in denjenigen Versuchen, in denen der Blutdruck nach erfolgter Einspritzung unverändert geblieben oder höher geworden war, auch der Sauerstoffverbrauch häufig mehr oder minder deutlich zugenommen hatte.

Überlegt man alles Gesagte, so wird man schließen müssen, daß die Phlorizinwirkung anderswie oder anderswo, als bisher angenommen wurde, ansetzt; also nicht nur an den Stellen im Organismus, die den Kohlenhydratumsatz und den Eiweißzerfall regeln, sondern auch an einer Stelle oder an Stellen, die speziell auf den Energieumsatz fördernd oder hemmend einwirken.

---

[1]) l. c.

[2]) Arnold Galambos und Emerich Schill, Über das Wesen der Phlorizinwirkung, Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. 16, 425, 1914.

Einen Aufschluß hierüber liefert uns das Verhalten der Körpertemperatur der Versuchstiere (siehe Tabelle I und VI). Was zunächst die Hundeversuche anbelangt, ist es aus nachstehender Zusammensetzung klar ersichtlich, daß die Körpertemperatur der Tiere nach der Phlorizineinspritzung in die Höhe ging. (Allerdings ist zu beachten, daß in Versuchsreihe III die Wärmeproduktion am Phlorizintag um 22 % gesteigert ist, die Körpertemperatur hingegen unverändert blieb; ferner, daß, wie erwähnt war, offenbar eine Infektion an der Einstichstelle stattgefunden hatte und das Tier an den folgenden Tagen deshalb fieberte.)

Mittlere Körpertemperatur °.

Versuchsreihe I.	Versuchsreihe II.	Versuchsreihe III.	Versuchsreihe IV.
38,3	38,5	38,9	38,7
38,0	38,2	38,7	39,1
38,5 Phl.	38,9 Phl.	38,8 Phl.	40,5 Phl.
39,4 Phl.	38,6	39,3	—
		39,1	

Besonders bemerkenswert ist, daß in Versuchsreihe I die Temperaturerhöhung am 2. Phlorizintag größer ist als am 1., genau so wie dies in der Wärmeproduktion der Fall war. Ferner daß in Versuchsreihe II die Temperatur an dem der Einspritzung folgenden Tag abfällt, genau so wie es im Energieumsatz der Fall war. Noch bemerkenswerter ist das Verhalten der Körpertemperatur in den beiden Phloretinversuchen.

Mittlere Körpertemperatur C°.

Versuchsreihe V.	Versuchsreihe VI.
38,6	38,1
38,5	38,0
38,6	38,2 Phl.
39,6 Phl.	38,1
39,1	37,9

Es ist zu sehen, daß in Versuchsreihe V die ansehnliche Temperatursteigerung am Phloretintag mit der 24 % betragenden Steigerung der Wärmeproduktion zusammenfällt, während in Versuchsreihe VI die Temperatur sowohl wie auch die Wärmeproduktion am Tage der Einspritzung beinahe unverändert sind.

Das Verhalten der Körpertemperatur von Hunden nach Phlorizingaben wurde von den Autoren nur wenig beachtet. Von mehr als 100 einschlägigen Arbeiten, die uns zugänglich

waren, sind es, so unwahrscheinlich es auch klinge, bloß vier, in denen diesbezüglich etwas vermerkt ist, u. z. wurde, soweit es sich um subcutane Injektionen von Phlorizin handelt, stets eine Erhöhung der Temperatur konstatiert.

Moritz und Praußnitz[1]) sagen ausdrücklich, daß das Phlorizin, das sie per os verabreichten, keine Einwirkung auf die Körpertemperatur ausübe.

Kumagawa und Miuras[2]) Hunde erhielten Phlorizin subcutan eingespritzt. In Versuch I (Tabelle A) betrug die Temperatur vor der Einspritzung 37,2, 37,6 38,0, 37,9, 38,1, am Tage der Einspritzung von 1,4 g (wobei Diarrhöe und Erbrechen folgten) **39,1°**. An den nächsten Tagen sank die Temperatur wieder auf 38,1, 38,0, 37,4, 36,3, 36,6, 37,0, 36,5. Eine 2. Injektion von 1,8 g Phlorizin, die nunmehr folgte, wobei kein Erbrechen auftrat, ließ die Temperatur wieder auf 37,9 ansteigen, worauf an den nächsten Tagen wieder 37,8, 36,4 folgten.

In Versuch II (Tabelle B) derselben Autoren war die Temperatursteigerung nach der Einspritzung weniger stark, doch eben noch zu erkennen.

Weitaus am lehrreichsten sind 2 Versuche von Otto Loewi[3]), deren Ergebnisse ich hier anführe:

Versuch 1			Versuch 2		
Datum	°	Phlorizin	Datum	°	Phlorizin
Jan. 1900			Jan. 1900		
17.	38,4		14.	38,3	
18.	38,6		15.	38,6	
19.	38,5	3×2 g per os	16.	38,5	
20.	**38,9**		17.	38,4	
21.	38,3		18.	38,4	
22.	38,4		19.	**40,2**	4,2 g subcutan
23.	38,3		20.	**39,3**	4,2 „ „
24.	38,5		21.	**38,7**	4,2 „ „
25.	38,3		22.	**39,0**	4,2 „ „
26.	38,3		23.	**39,0**	4,2 „ „
27.	**39,3**	3×2 g subcutan	24.	**39,0**	4,2 „ „
28.	**39,5**		25.	**38,5**	4,2 „ „
29.	38,5		26.	**39,3**	4,2 „ „
30.	38,3		27.	**39,6**	9,0 „ „
31.	38,4		28.	**40,2**	9,0 „ „
			29.	**39,0**	

[1]) F. Moritz und W. Praußnitz, Studien über den Phlorizindiabetes. Zeitschr. f. Biol. 27, 81, 1890.

[2]) Muneo Kumagawa und Rentaro Miura, Zur Frage der Zuckerbildung aus Fett im Tierkörper. Arch. f. (Anat. und) Physiol. 1898, 431.

[3]) Otto Loewi, Zur Kenntnis des Phlorizindiabetes I. Über den Einfluß der Applikationsweise des Phlorizins auf die Größe der Zuckerausscheidung. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 47.

Endlich sei noch Graham Lusks[1]) Hund II erwähnt, dessen Temperatur am 3. Hungertag 37,1° betragen hatte, und an den beiden nächsten Phlorizintagen allmählich bis 38,2 angestiegen war.

So spärlich nun auch die Daten — mangels weiterer diesbezüglicher Feststellungen — sind, läßt sich nicht daran zweifeln, daß durch das Phlorizin, Hunden in kleineren oder größeren Dosen subcutan beigebracht, deren Körpertemperatur deutlich erhöht wird.

Es fragt sich, ob diese Erscheinung mit dem gesteigerten Energieumsatz in Zusammenhang zu bringen ist? Ich glaube diese Frage gewiß, u. z. in dem Sinne bejahen zu dürfen, wie es für das Fieber angenommen wird. Im Fieber führt das infektiöse Agens nicht nur zu einem erhöhten Eiweißzerfall, sondern — daneben und nicht demzufolge — zu einer Störung resp. Veränderung der Wärmeregulierung. Die Folge hiervon ist die erhöhte Wärmeproduktion (anfangs auch verminderte Wärmeabgabe) und die auf ein höheres Niveau eingestellte Körpertemperatur.

Genau so bewirkt das Phlorizin am Hunde eine starke Einschmelzung von Eiweiß und daneben eine Steigerung der Wärmeproduktion und der Körpertemperatur.

Sind diese Ausführungen richtig, so mußte für die Rattenversuche, in denen die Phlorizinwirkung in einem Abfall der Wärmeproduktion sich äußerte, ein Abfall der Körpertemperatur eintreten. Wir werden gleich sehen, daß dies tatsächlich der Fall war.

Die Feststellung der Körpertemperatur war an den kleinen bissigen Tieren, die dabei recht ungebärdig waren, mit ziemlichen Schwierigkeiten verbunden; und obzwar die Messung mit Hilfe des bekannten Kunstgriffes (Hineinzwängen der Ratte in ein der Länge nach geschlitztes Blechrohr) meistens gelang, blieb es doch zuweilen fraglich, ob die Messung auch richtig war. Wenn auch das Resultat aus dem soeben dargelegten Grunde nicht in allen Versuchsreihen ein gleichmäßiges war, läßt sich nicht verkennen, daß die Köpertemperatur der meisten Ratten durch das Phlorizin herabgesetzt wird. Zweifellos läßt sich dies für den Tag der Einspritzung, even-

[1]) l. c.

tuell noch für den nächsten Tag konstatieren in Versuchsreihen VIII, IX, XIII, XV und XVIII. Besonders wichtig ist das merkliche Sinken der Körpertemperatur in der letztgenannten Versuchsreihe, in der das Tier die relativ kleine Dosis von 0,04 g Phlorizin pro 1 kg erhielt.

Im Einklang mit den obigen, an die Hundeversuche geknüpften Betrachtung müssen wir also schließen: auch in den Ratten wird der Eiweißzerfall durch das Phlorizin stark gesteigert, daneben — und davon unabhängig — findet jedoch eine derartige Veränderung in der Wärmeregulierung statt, die zu dem entgegengesetzten Resultat, als an den Hunden konstatiert wurde, führt, nämlich zu einem herabgesetzten Energieumsatz und zu einem Abfall der Körpertemperatur.

Die angenommene artindividuelle Verschiedenheit in dem Verhalten von Hunden und Ratten gegenüber dem Phlorizin bestünde also darin, daß es wohl in beiden Tierarten zu einem gesteigerten Eiweißzerfall, daneben aber zu entgegengesetzt gerichteten Veränderungen in der Wärmeregulierung kommt. Dafür, daß wirksame Mittel in den Zentren oder an der Peripherie an verschiedenen Tierarten verschiedenartige Wirkungen ausüben, könnte wohl manches Beispiel angeführt werden.

Die Ergebnisse obiger Versuche lassen sich in folgendem zusammenfassen.

1. Der Energieumsatz und die Körpertemperatur hungernder Hunde werden durch Phlorizin, in Dosen von ca. 0,05 g pro 1 kg subcutan beigebracht, nachweislich erhöht.

2. Der Energieumsatz, oft auch die Körpertemperatur hungernder Ratten werden durch Phlorizin, in Dosen von 0,02 bis 1,05 g pro 1 kg subcutan beigebracht, nachweislich herabgesetzt.

3. Phlorizin bewirkt an beiden Tierarten eine starke Steigerung des Eiweißzerfalles.

4. Da der erhöhte Eiweißzerfall an der Ratte mit herabgesetzter Wärmeproduktion einhergeht, kann die erhöhte Wärmeproduktion, die an Hunden be-

obachtet wird, nicht von dem gesteigerten Eiweißzerfall herrühren.

5. Desgleichen kann es nicht aufrecht erhalten werden, daß die mit dem eingeschmolzenen Eiweiß in Umsatz gebrachte Energiemenge in einem konstanten Verhältnis zur Steigerung der Wärmeproduktion stünde. (Rubner, Lusk.)

6. Zur Erklärung der Veränderung des Energieumsatzes im Sinne einer Steigerung am Hunde, einer Verringerung an der Ratte, wird eine Einwirkung des Phlorizins auf die wärmeregulierenden Zentren herangezogen, die von dem erhöhtem Eiweißzerfall unabhängig ist.

Stoffwechselversuche mit rectaler Ernährung.

Von

L. Ornstein.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Budapest.
Direktor: Weiland Franz Tangl.)

(Eingegangen am 2. Februar 1918.)

Ohne auf die Bedeutung und auf die ganze umfangreiche Literatur der rectalen Ernährung einzugehen, welch letztere übrigens von Reach[1]) im Jahre 1910 eingehend gewürdigt wurde, will ich im nachfolgenden über zwei Versuchsreihen berichten, in denen Hunde längere Zeit hindurch ausschließlich per rectum ernährt wurden.

Plan dieser Arbeit war nicht, wie in vielen vorangehenden Arbeiten, einfach die Resorbierbarkeit einzelner Nährstoffe aus dem Mastdarm während einer kurzen Spanne Zeit zu prüfen, sondern den Tieren ein möglichst vollwertiges, ihrem Hungerbedarf ungefähr entsprechendes Nahrungsgemich beizubringen und zu bestimmen, wie lange sie auf diese Weise erhalten werden können. Durch Variation des eingeführten Eiweißes, sowie der stickstofffreien Bestandteile sollte auch die Resorbierbarkeit verschiedener Eiweißarten geprüft werden, sowie auch der Einfluß der stickstofffreien Nährstoffe auf die Resorbierbarkeit des Eiweißes.

1. Methodik und Einrichtung der Versuche.

Zur Bestimmung der Resorption der einzelnen Nährstoffe wurde die sogenannte „Auswaschungsmethode" verwendet. In-

---

[1]) Felix Reach, Über Rectalernährung. Kritisches Sammel-Referat. Centralblatt für die Grenzgebiete der Medizin und Chirurgie 7, 289 und 304, 1904.

dem sowohl die Nährklysmen, als auch der Kot und das Mastdarmspülwasser (siehe unten) auf N-, Kohlenhydrat- und Fettgehalt, sowie auch auf ihren Gehalt an chemischer Energie geprüft wurden, konnte die Resorbierbarkeit der einzelnen Bestandteile der Nährklysmen festgestellt werden.

Gegen diese Methode wurden von manchen Autoren Bedenken geäußert, wohl am schärfsten von Bywaters und Rendle Short[1]), die dieselbe als ganz unzuverlässig bezeichnen. In der Tat sind bei einer nicht ganz einwandfreien Versuchsanordnung Zersetzungen nicht in Abrede zu stellen, wobei das zersetzte Substrat der Bestimmung entgehen und so eine Resorption vorgetäuscht werden kann. Desgleichen ist es auch möglich, daß Teile eines Klysmas ausnahmsweise in höhere Darmabschnitte hinaufgelangen, und so wieder ein täuschendes Defizit im Kot entsteht. Bei der Versuchsanordnung jedoch, die ich getroffen habe und die nun besprochen werden soll, wären solche Bedenken teils ganz unbegründet, teils weit übertrieben.

Ausser im Klysma und im Kot wurde N- und Energiegehalt auch im Harn bestimmt; dadurch konnte neben der Eiweißbilanz des Tieres auch die Verwertbarkeit der Klysmenbestandteile im Tierkörper berechnet werden.

Zu den Versuchen dienten zwei Hündinnen, A und B, die nach Falck operiert und selbstredend erst nach vollständiger Heilung der Wunde zu den Versuchen eingestellt wurden. Sie wurden während der ganzen Versuchsdauer in Stoffwechselkäfigen gehalten, die ein getrenntes Sammeln von Kot und Harn gestatteten.

Vor dem Beginne der eigentlichen Versuche wurde den Tieren die Nahrung durch je 4 Tage ganz entzogen, und erst nachdem ihr Mastdarm durch Irrigation gereinigt war, begannen die Versuche mit den Nährklysmen.

Die Nährklysmen. Auf Grund vorausgegangener orientierender Versuche konnte ich feststellen, daß größeren Hunden von etwa 10 kg Gewicht täglich drei Klysmen von je

---

[1]) H. B. Bywaters und A. Rendle Short, Aminosäuren und Zucker bei der Rectalernährung. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 74, 426, 1913.

110 bis 120 ccm beigebracht werden können, ohne daß der Versuch durch stärkere Reizung und daher durch eine vorzeitige Entleerung des Mastdarmes gestört würde. Kleineren, 5 bis 6 kg schweren Hunden wurden die Klysmata zu je 60 bis 80 ccm bemessen.

Das größte Gewicht wurde auf eine geeignete Zusammensetzung des Nährgemisches gelegt, denn einerseits mußte es eine bestimmte Menge möglichst gut verwertbaren Eiweißes, sowie auch Kohlenhydrate und Fette enthalten, andererseits so zusammengestellt sein, daß eine chemische Reizung der Mastdarmschleimhaut ausgeschlossen sei.

Wie viele andere Autoren habe auch ich in allen Versuchsperioden Stärke und Traubenzucker —, in mehreren Perioden Milch, Sesamöl, Eier —, in zwei Perioden Fleischpulver verwendet; hingegen habe ich in den weitaus meisten der Versuchsperioden das Eiweiß in Form von Blutserum vom Rinde (einmal vom Pferde) eingebracht, was bisher noch selten versucht wurde.

Stärke wurde in einem vorgewärmten Mörser mit heißem Wasser verrieben und nach erfolgter Verkleisterung mit Wasser weiter verdünnt.

Sesamöl wurde mit dem Blutserum — in einem Falle mit verdünntem Eiinhalt — durch anhaltendes starkes Schütteln emulgiert; die Emulsion wurde in einigen Versuchen mit 1 bis 3 g kohlensaurem Natrium versetzt.

In den Versuchen mit Eiern wurde ein größeres Quantum von Eiklar plus Eigelb durch anhaltendes Verreiben in einem Mörser in eine möglichst homogene Flüssigkeit verwandelt.

Fleischmehl wurde in feinster Pulverform verwendet. In zwei Versuchsperioden wurde dem betreffenden Gemisch auch Pancreatinum siccum (Merck) beigegeben, dessen tryptische Wirkung die Resorption befördern sollte. Jedes Gemisch wurde mit Kochsalz bis zu einem Gehalt von 1 bis 2 % versetzt, wodurch laut der Erfahrung aller Autoren die Resorption günstig beeinflußt wird.

Vom fertigen, für eine ganze Versuchsperiode in der Dauer von 3 bis 6 Tagen bemessenen Gemisch wurden den Tieren täglich 2 bis 3 Portionen von dem obengenannten Umfang, 40° warm, in den Mastdarm eingegossen. Dies geschah bei

sehr niedrigem Druck durch einen Gummischlauch, der sogar am kleineren Tier 30 cm tief vorgetrieben werden konnte. Dickflüssige oder breiige Gemische wurden durch eine an dem Schlauchende angefügte Spritze eingebracht, deren Stempel jedoch nur ganz langsam vorgetrieben werden durfte.

Überhaupt musste mit größter Vorsicht vorgegangen werden, um nicht durch ungestümes Eingießen eine sofortige oder frühzeitige Entleerung des Eingegossenen zu provozieren.

Im Falle einer chemischen Reizung durch unpassende Zusammensetzung oder Zersetzung des Klysmas helfen meiner Erfahrung nach in solchen Dauerversuchen weder adstringierende, noch die Peristaltik verlangsamende Mittel. Nur eine passende Zusammensetzung und behutsame Eingießung der Klysmen schützen in der Regel vor Mißerfolg.

Analyse der Nährgemische und der Entleerungen. Im Blutserum, in der Milch, im Fleischmehl, im Pancreatin wurde der Stickstoff nach Kjeldahl (metallisches Hg als Katalysator), der Energiegehalt durch calorimetrische Verbrennung in einer modifizierten Berthelot-Mahlerschen Bombe bestimmt. Für den Energiegehalt von Traubenzucker, Stärke und Sesamöl wurden die bekannten Werte von 3,74 resp. 4,2 resp. 9,3 kg-Cal. pro 1 g angesetzt.

In der Milch wurde das Fett nach Farnsteiner, der Milchzucker sowohl durch Reduktion (nach Pavy-Kumagawa-Suto) als auch der Kontrolle halber im Phosphorwolframsäure-Filtrat polarimetrisch bestimmt.

Der Harn wurde täglich zur selben Stunde durch Katheterisieren und Spülen der Blase mit einer 1%igen Lösung von Borsäure abgegrenzt und einerseits auf seine Reaktion, andererseits auf die Anwesenheit von Eiweiß und Zucker geprüft, (während der ganzen Versuchsdauer wurde keines der beiden gefunden). Die N-Bestimmung wurde täglich, wie oben beschrieben, vorgenommen.

Zur Bestimmung des Energiegehaltes, die innerhalb jeder Versuchsperiode bloß einmal erfolgte, wurden proportionale Anteile der täglichen Harnmengen vermischt, je 10 bis 15 ccm des Gemisches in mehreren Platinschälchen eingedampft und in einem Teil derselben der Energiegehalt durch calorimetrische Verbrennung, in einem anderen Teil der während des Ein-

dampfens erlittene N-Verlust bestimmt. Für je 1 g verlorenen N wurde nach Rubner eine Korrektion von 5,407 kg-Cal. in Rechnung gebracht.

Die Abgrenzung des Kotes erfolgte durch feingepulverte Kieselsäure, die einige Stunden vor dem Ende jeder Versuchsperiode den Tieren in Wasser aufgeschwemmt durch den Magenschlauch eingegossen wurde. Um ein längeres Verweilen von Kotresten im Mastdarm, hierdurch eine Zersetzung der Reste und eine konsekutive Reizung der Mastdarmschleimhaut hintanzuhalten, wurde an den Tieren jedesmal, ehe sie das Nährklysma erhielten, eine Mastdarmspülung vorgenommen.

Von dem meist weichen Kot blieb in der Regel recht viel am Gitter des Käfigs haften; diese Reste wurden sorgfältig entfernt, das Gitter überdies noch mit Wasser durch Bürsten gereinigt und das Spülwasser plus dem Mastdarmspülwasser mit dem Kot vermischt und am Wasserbade eingedampft. (In solchen Versuchen, in denen das Nährklysma auch Fett enthielt, wurde ein genau abgemessener Anteil des gut vermengten Kotes vor dem Eintrocknen von der ganzen Masse abgesondert und die größte Menge des Fettes durch Ausschütteln mit Äther entfernt).

Der eingetrocknete Kot wurde zu einem möglichst homogenen Pulver verrieben, und sein N-Gehalt, sowie der Gehalt an Kohlenhydraten, eventuell auch der Fettgehalt bestimmt. Die N-Bestimmung erfolgte, wie oben beschrieben; die Bestimmung des Fettes durch 36 Stunden langes Extrahieren nach Soxhlet. Zur Bestimmung der Kohlenhydrate im Kot wurden dieselben insgesamt in Traubenzucker übergeführt; zu diesem Behufe wurden ca. 3 g des Kotpulvers mit 200 ccm 2,5 $^0/_0$iger Salzsäure 3 bis 4 Stunden lang am siedenden Wasserbad erhitzt, das Filtrat mit Phosphorwolframsäure gefällt, und im abermaligen Filtrat der Zucker, wie oben S. 220, bestimmt.

2. Ergebnisse der Versuche.

Die Ergebnisse der Analysen und deren Berechnung ist aus nachfolgenden Tabellen zu ersehen, und zwar enthält Tabelle I und II die Daten über die Zusammensetzung der Nährklysmen, Tabelle III die der Entleerungen sowie die Berechnung der Verdauungskoeffizienten.

Tabelle I.

(Hund A.)

Versuchsperiode	Datum	Die Klysmen eines Tages bestanden aus	Die Klysmen eines Tages enthielten			
			N g	Traubenzucker g	Fett g	Chemische Energie g
	14.—18. I.	0	0	0	0	0
I.	18.—22. I.	Blutserum . . 154 ccm Traubenzucker 8,8 g Stärke . . . 20,2 „	2,29 — —	— 8,8 22,4[1]	— — —	80,2 34,8 83,0
		zusammen:	**2,29**	**31,2**		**198,1**
II.	22.—28. I.	Blutserum . . 142 ccm Traubenzucker 6,5 g Stärke . . . 18,8 „ Sesamöl . . . 32,3 „	2,32 — — —	— 6,5 20,9[1] —	— — — 32,3	81,4 24,3 79,2 304,0
		zusammen:	**2,32**	**27,4**	**32,3**	**488,9**
III.	28. I. — 2. II.	Milch . . . . 300 ccm Traubenzucker 8,8 g Stärke . . . 20,8 „	1,53 — —	15,1 8,8 23,1[1]	10,5 — —	211,0 32,9 87,5
		zusammen:	**1,53**	**47,0**	**10,5**	**331,4**
IV.	2.—8. II.	Blutserum . . 219 ccm Traubenzucker 9,0 g Stärke . . . 21,0 „	2,53 — —	— 9,0 23,3[1]	— — —	88,5 33,7 88,2
		zusammen:	**2,53**	**23,3**		**210,4**
V.	8.—11. II.	Blutserum . . 231 ccm Traubenzucker 11,0 g Stärke . . . 25,7 g Sesamöl . . . 20,0 g	2,63 — — —	— 11,0 28,5[1] —	— — — 20,0	92,2 41,2 107,9 187,8
		zusammen:	**2,63**	**39,5**	**20,0**	**429,1**
VI.	11.—14. II.	Eier . . . . 126,7 g Traubenzucker 9,0 „ Stärke . . . 21,0 „ Sesamöl . . . 2,0 „	2,57 — — —	— 9,0 23,3[1] —	10,8 — — 2,0	228,0 33,7 88,3 18,8
		zusammen:	**2,57**	**32,3**	**12,8**	**368,8**

A. Resorption der Eiweißkörper. Das ansehnliche N-Defizit, in dem sich beide Tiere während der vorausgegangenen

[1]) Stärke in Traubenzucker umgerechnet.

Tabelle II.

(Hund B.)

Versuchsperiode	Datum	Die Klysmen eines Tages bestanden aus	Die Klysmen eines Tages enthielten			
			N g	Traubenzucker g	Fett g	Chemische Energie g
	8.—12. III.	0	0	0	0	0
I.	12.—15. III.	Blutserum . . 150 ccm	2,08	—	—	76,8
		Traubenzucker 6,0 g	—	6,0	—	22,5
		Stärke . . . 15,0 „	—	16,6 [1])	—	63,1
		zusammen:	**2,08**	**22,6**		**162,4**
II.	15.—18. III.	Blutserum . . 150 ccm	1,96	—	—	72,1
		Traubenzucker 6,0 g	—	6,0	—	22,5
		Stärke . . . 15,0 „	—	16,6 [1])	—	63,1
		Sesamöl . . . 20,2 „	—	—	20,2	190,0
		zusammen:	**1,96**	**22,6**	**20,2**	**347,7**
III.	18.—21. III.	Milch . . . . 210 ccm	1,22	9,8	7,8	157,9
		Traubenzucker 6,0 g	—	6,0	—	22,5
		Stärke . . . 15,0 „	—	16,6 [1])	—	63,1
		zusammen:	**1,22**	**32,4**	**7,8**	**243,5**
IV.	21.—24. III.	Eier . . . . 120,0 g	2,59	—	12,3	228,4
		Traubenzucker 4,0 „	—	4,0	—	15,0
		Stärke . . . 11,3 „	—	12,6 [1])	—	47,5
		zusammen:	**2,59**	**16,6**	**12,3**	**290,9**
V.	24.—27. III.	Eier . . . . 100,0 g	2,01	—	10,0	184,2
		Traubenzucker 4,0 „	—	4,0	—	15,0
		Stärke . . . 12,0 „	—	13,3 [1])	—	50,5
		Pankreatin . 2,0 „ (Natr. carbon. ad 1 %)	0,03	—	—	7,3
		zusammen:	**2,04**	**17,3**	**10,0**	**257,0**
VI.	27.—30. III.	Fleischmehl . 30,0 g	3,93	—	—	173,7
		Traubenzucker 6,0 „	—	6,0	—	22,5
		Stärke . . . 15,0 „	—	16,6 [1])	—	63,1
		zusammen:	**3,93**	**22,6**		**259,3**
VII.	30. III.—2. IV.	Fleischmehl . 30,0 g	3,93	—	—	173,7
		Traubenzucker 6,0 „	—	6,0	—	22,5
		Stärke . . . 15,0 „	—	16,0 [1])	—	63,1
		Pankreatin . 3,0 „ (Natr. carbon. ad 1 %)	0,04	—	—	11,8
		zusammen:	**3,97**	**22,6**		**271,1**

[1]) Stärke in Traubenzucker umgerechnet.

Tabelle

Versuchstier	Versuchsperiode	Körpergewicht: am Beginn der Periode g	Körpergewicht: am Ende der Periode g	Körpergewicht: tägliche Abnahme g	Stickstoff: eingeführt g	Stickstoff entleert: im Harn g	Stickstoff entleert: im Kot g	Stickstoff entleert: zusammen g	Stickstoff: Bilanz g	Stickstoff resorbiert: g	Stickstoff resorbiert: %	Stärke (in Traubenzucker umgerechnet): eingeführt g	Stärke: im Kot entleert g	Stärke resorbiert: g	Stärke resorbiert: %
A.		7750	7600	38	0	3,13	0,08	3,21	– 3,21	—	—	—	—	—	—
	I.	7600	7430	42	2,29	1,71	1,82	3,53	– 1,24	0,47	20,6	22,4	12,5	9,9	44,2
	II.	7430	6850	97	2,32	0,90	2,06	2,96	– 0,64	0,26	11,2	20,9	12,0	8,9	42,6
	III.	6850	6475	75	1,53	1,02	1,40	2,42	– 0,89	0,13	8,5	23,1	15,3	7,8	33,7
	IV.	6475	6250	38	2,53	1,45	2,30	3,75	– 1,22	0,23	9,1	23,3	9,8	13,5	57,9
	V.	6250	5980	90	2,63	1,73	2,24	3,97	– 1,34	0,39	14,8	28,5	10,4	18,1	63,5
	VI.	5980	4540 [1])	115	2,57	2,29	2,34	4,63	– 2,06	0,23	8,9	23,3	6,2	17,1	73,9
B.		4540	4270	67	0	1,97	0,10	2,07	– 2,07	—	—	—	—	—	—
	I.	4270	4130	47	2,08	1,33	1,69	3,02	– 0,94	0,39	18,7	16,6	6,3	10,3	62,0
	II.	4130	4030	33	1,96	1,02	1,58	2,60	– 0,64	0,38	19,4	16,6	2,2	14,4	86,7
	III.	4030	3880	50	1,22	0,76	0,98	1,74	– 0,52	0,24	19,7	16,6	3,6	13,0	78,3
	IV.	3880	3700	60	2,59	1,08	2,18	3,26	– 0,67	0,41	15,8	12,6	1,6	11,0	87,3
	V.	3700	3600	33	2,04	0,77	1,71	2,48	– 0,44	0,33	16,1	13,3	6,1	7,2	54,1
	VI.	3600	3350	83	3,93	0,85	3,37	4,22	– 0,29	0,56	14,3	16,6	6,6	10,0	60,2
	VII.	3350	3255 [1])	47	3,97	1,10	3,53	4,63	– 0,66	0,44	11,1	16,6	6,6	10,0	60,2

Hungerperiode befunden hatten, wurde, sobald die Eingießung der Nährklysmen begonnen hatte, geringer. Nur zum Teil ist dies dem aus den Klysmen resorbierten Eiweiß zuzuschreiben, zum großen Teil der eiweißsparenden Wirkung der eingeführten stickstofffreien Bestandteile. Denn, wie dem Stab 7 der Tabelle III zu entnehmen ist, hat auch die Menge des zersetzten Eiweißes (Harn-N) durchweg stark abgenommen.

Die Resorption des Eiweißes hält sich durchweg in ziemlich engen Grenzen und erhebt sich in keiner Versuchsperiode über 21 % der eingeführten Menge. Hund B hatte sowohl vom Serumeiweiß als auch von dem in der Milch und in Eiern eingeführten Eiweiß mehr als Hund A resorbiert, trotzdem er im Serum und in der Milch weniger eingeführt erhielt. Es dürfte diese bessere Resorption davon herrühren, daß ich bei der Ausführung der Versuche an Hund B bereits über eine Reihe von Erfahrungen verfügte, die eben an Hund A erst gesammelt werden mußten. Den am Hund B strikter als bei A durchgeführten täglichen Darmspülungen ist es offenbar

[1]) Am Ende des zweiten Versuchstages dieser Periode!

III.

Fett				Chemische Energie						Außer Traubenzucker und Stärke wurden in dieser Versuchsperiode eingeführt
eingeführt	im Kot entleert	resorbiert		eingeführt	entleert		resorbiert		verwertet	
					im Harn	im Kot				
g	g	g	%	kg-Cal.	kg-Cal.	kg Cal.	kg-Cal.	%	%	
—	—	—	—	0	26,1	2,8	—	—	—	(Kein Nährklysma.)
—	—	—	—	198,4	16,5	86,3	112,1	56,5	48,2	Blutserum.
32,3	28,5	3,8	11,7	488,9	8,9	378,0	110,9	22,7	20,8	Blutserum und Sesamöl.
10,5	7,5	3,0	28,6	331,4	10,9	182,2	149,2	45,0	41,7	Milch.
—	—	—	—	210,4	16,3	100,5	109,9	52,3	44,5	Blutserum.
20,0	16,4	3,6	18,0	429,1	15,7	250,6	178,5	41,6	37,9	Blutserum und Sesamöl.
12,8	9,1	3,7	28,9	368,8	19,5	197,4	171,4	46,5	41,2	Eier und wenig Sesamöl.
—	—	—	—	0	15,1	3,1	—	—	—	(Kein Nährklysma.)
—	—	—	—	162,4	11,2	80,2	82,2	50,6	43,7	Blutserum.
20,2	15,9	4,3	21,2	347,7	10,0	218,8	128,9	37,1	34,2	Blutserum und Sesamöl.
7,8	3,1	4,7	60,3	243,5	8,2	77,1	166,4	68,2	65,0	Milch.
12,3	10,8	1,5	12,2	290,9	10,6	199,1	91,8	31,6	27,9	Eier.
10,0	8,6	1,4	14,0	257,0	8,9	181,9	75,1	29,2	25,7	Eier (plus Pankreatin).
—	—	—	—	259,3	7,4	174,5	84,8	32,7	29,9	Fleischmehl.
—	—	—	—	271,1	10,6	183,5	87,6	32,3	8,4	Fleischmehl (plus Pankreatin).

zu verdanken gewesen, daß Tier B ganze Perioden hindurch (I und II) kein einziges Mal, und in den anderen Versuchsperioden höchstens 1- bis 2 mal täglich spontane Kotentleerung hatte; das längere Verweilen des eingegossenen Gemisches hatte aber sicherlich eine ausgiebigere Resorption zur Folge.

Die absoluten Mengen des resorbierten Eiweißes waren am geringsten, wenn es in Form von Milch, am größten, wenn es als Fleischmehl gegeben wurde. Doch läßt sich hieraus auf einen Unterschied in der Resorbierbarkeit der verschiedenen Eiweißarten darum nicht folgern, weil in der Milch wesentlich weniger, im Fleischmehl wesentlich mehr Eiweiß als im Blutserum eingeführt wurde. Ja, aus diesem Umstande läßt sich mit großer Wahrscheinlichkeit folgern, daß die Resorption von Eiweißkörpern durch gesteigerte Zufuhr — wenigstens innerhalb gewisser Grenzen — erhöht werden kann. Allerdings ist diese Erhöhung nicht proportional der gesteigerten Einfuhr, denn namentlich am Hund B sieht man mit Zunahme der eingeführten Eiweißmengen den Verdauungskoeffizienten abnehmen.

Das Eine geht aus diesen Versuchen sicher hervor, daß

genuines Eiweiß — ob als solches, oder in Form seiner Spaltprodukte, soll hier nicht erörtert werden — in durchaus nicht zu vernachlässigenden Mengen aus dem Mastdarm resorbiert werden kann, was von vielen Autoren bestritten wird.

Wenn Begtrup[1]) vor 2 Jahren noch sagen konnte, daß „.... es bis jetzt unmöglich gewesen, einen unbestreitbaren Beweis dafür zu erbringen, daß das native Eiweiß oder seine ersten Abbauprodukte im Dickdarm resorbiert werden“, tut er so manchen wertvollen Experimentalarbeiten, die aus der Literatur bekannt sind und deren Ergebnisse mit den meinigen im Einklange stehen, durchaus unrecht. So hat bereits im J. 1901 Junichi Mochizuki[2]) in zwei Versuchsreihen, an sich selbst und an einer Kranken, einer stickstoffreichen Diät feingehackte Thymusdrüse in einem Nährklysma hinzugesetzt und die stattgehabte Resorption des Eiweißes an dem N-Defizit im Kot, an der Vermehrung der Harn-N und an der sehr deutlichen Steigerung der Harnsäureausscheidung gegenüber der Vor- und Nachperiode erkennen können. — Auch Ehrström[3]) konnte mit Recht folgern, daß „Klystiere von .... Proton[4]) vortrefflich vom Organismus ausgenützt werden“; für die ausgiebige Eiweißresorption sprach in seinen Versuchen das Verhalten des Harn-N, der nach Applizierung des N-haltigen Klysmen eine wesentliche Steigerung erfuhr.

Endlich sah d'Agata[5]), daß an zwei Kranken, denen in Fleischbrühe und Eiern täglich je 6,6 g N per rectum eingebracht wurden, das anfängliche N-Defizit von ca. 7 g täglich auf etwa 0,5 g sank, resp. in ein annäherndes N-Gleichgewicht überging.

Dem Wert der ebengenannten beweisenden Versuche tut

---

[1]) Erik Begtrup, Untersuchungen über die Rectalernährung. Arch. f. Verdauungskrankh. **21**, 369, 1915.

[2]) Junichi Mochizuki, Über die Resorption der Eiweißkörper von der Schleimhaut des Dickdarms nach Versuchen mit Thymusklystieren. Arch. f. Verdauungskr. 7, 221, 1901.

[3]) Robert Ehrström, Über den Nährwert der Caseinklystiere nebst Bemerkungen über den Phosphorstoffwechsel. Zeitschr. f. klin. Med. **49**, 377, 1903.

[4]) Trockenes, poröses Caseinpräparat.

[5]) Giuseppe d'Agata, Über Rectalernährung nach Operationen im Munde und im Schlunde. Berl. klin. Wochenschr. **51**, 638, 1914.

es keinen Abbruch, wenn im Gegensatz zu denselben Adler[1]), der in Selbstversuchen N in Form von Eiern und Witte-Pepton per rectum einbrachte, den eingeführten N in den Faeces wiederfand und der Harn-N nur eine unbedeutende Steigerung erfahren hatte.

B. Resorption der Kohlenhydrate. Obwohl es natürlich am lehrreichsten gewesen wäre, die Resorption von Stärke und Zucker nebeneinander zu verfolgen, mußte dies aus technischen Gründen unterbleiben; denn es hätte Schwierigkeiten bereitet, im Kot unresorbierten Traubenzucker nicht nur neben Stärke, sondern auch neben deren mannigfaltigen höheren Abbauprodukten zu bestimmen. Statt dessen habe ich die Sache dadurch vereinfacht, daß ich einerseits sämtliche im Kot befindlichen Kohlenhydrate durch Hydrolyse in Traubenzucker überführte, andererseits in der Voraussetzung, daß Trauben-, allenfalls auch Milchzucker, zu allererst, also vor der Stärke, resorbiert werden, den im hydrolysierten Kot enthaltenen Zucker allen von unresorbierter Stärke herrührend betrachtet. Dies dürfte ich um so eher tun, da, wie die Untersuchung ergab, die Gesamtmenge der Kohlenhydrate im Kot immer noch weit unterhalb der Menge der eingeführten Stärke geblieben war.

Auf diese Weise berechnet, ergibt sich aus meinen Versuchen, daß von Stärke unregelmäßig wechselnde, immerhin jedoch ansehnliche Mengen resorbiert werden. Dabei war die relative Menge der resorbierten Stärke an Hund B durchschnittlich größer als am anderen Tiere, offenbar, weil ersterer weniger Stärke erhalten hatte. Also zeigt sich auch hier, wie beim Eiweiß, daß bei gesteigerter Zufuhr wohl absolut mehr, jedoch relativ weniger resorbiert wird.

Eine Störung der Resorption der Stärke durch gleichzeitig eingeführtes Fett konnte nicht beobachtet werden, denn den Fettperioden II und III an Tier A, sowie der Fettperiode V an Tier B, in denen die Stärkeresorption geringer ausfiel, stehen die Fettperioden V und VI an Hund A, sowie II, III und IV an Hund B gegenüber, in denen wieder mehr Stärke resorbiert wurde.

---

[1]) Adler, Untersuchungen über die Resorption und Assimilation tief abgebauten Eiweißes vom Rectum aus. Inaug.-Diss. Würzburg 1913. Zitiert bei Begtrup (s. oben).

Der Einwand, daß das Defizit im Kot, das wir eben als Resorption auslegen, etwa durch bakterielle Gärung verursacht wird — indem die Kohlenhydrate in diesem Zustande der Bestimmung entgehen —, ein Einwand, den, wie es scheint, zuerst H. Strauß[1]) erhoben hatte, kann natürlich nicht von vornherein abgelehnt werden. Doch dürfte F. Reach[2]) über die Auswaschungsmethode ein zu scharfes Urteil gefällt haben, wenn er sagt, daß die „aus Klysmen resorbierte Menge von Kohlenhydraten . . . . durch die Bestimmung des Defizits im Stuhle wegen der Zersetzungen . . . . nicht meßbar“ ist. Denn es ist als durchaus unwahrscheinlich zu bezeichnen, daß von Mengen bis zu 47 g (in Traubenzucker ausgedrückt) wie in meinen Versuchen, oder gar von 195 g Traubenzucker, wie in v. Halász'[3]) Menschenversuchen, auch nur ein ansehnlicher Teil vergärt wäre.

Darin hat Reach wohl zweifellos recht, daß er als einwandfreien Beweis der aus Einläufen stattfindenden Zuckerresorption die Erhöhung des respiratorischen Quotienten ansieht, die in seinen Versuchen, sowie auch in einigen, an anderer Stelle mitzuteilenden Versuchen, nicht zu verkennen ist.

Einen indirekten, jedoch um so schlagenderen Beweis für die Resorption der Kohlenhydrate habe ich schon bei der Besprechung der Eiweißresorption angeführt, wo gezeigt wurde, daß die Eiweißzersetzung gleich nach Beginn der rectalen Ernährung eine ansehnliche Einschränkung erfährt. Dies kann nicht anders als durch ausgiebige Resorption von N-freien Eiweißsparern erklärt werden, und diesbezüglich kommt, wie wir sofort sehen werden, Fett nur wenig in Betracht.

C. Resorption der Fette. Recht merkwürdig sind die Ergebnisse, die bezüglich des rectal eingeführten Fettes erhalten wurden. Hier zeigte sich nämlich, daß die absolute Menge des

---

[1]) Herrmann Strauß, Charité-Annalen, zitiert nach Reach, s. unten.

[2]) Felix Reach, Über Rosorption von Kohlenhydraten von der Schleimhaut des Rectums. Arch. f. exper. Patholog. u. Pharmak. 47, 231, 1902.

[3]) Aladár v. Halász, Die Resorption und das biologische Verhalten der verschiedenen Zuckerarten im Dickdarme. Deutsch. Arch. f. klin. Med. 98, 433, 1910.

resorbierten Fettes an Hund A annähernd dieselbe ist, ob viel oder weniger Fett eingegossen wurde und welcher Art dasselbe war: fein emulgiertes Fett der Milch oder von Eiern, oder aber das künstlich, daher gröber emulgierte Sesamöl. In den vier hier in Betracht kommenden Versuchsperioden II, III, V und VI hatte Hund A nicht weniger als 3 und nicht mehr als 3,8 g Fett resorbiert. Hund B verhielt sich etwas anders, indem das Minimum des resorbierten Fettes 1,4, das Maximum 4,7 g betrug; und sofern es überhaupt angängig ist, aus solch verschieden großen Werten das Mittel zu ziehen, ergibt sich der Wert von ca. 3 g, also annähernd dasselbe wie an Hund A.

Es stellt sich demnach heraus, daß die Resorption der Fette aus dem Mastdarm eine recht beschränkte ist und durch Erhöhung der Zufuhr nicht gesteigert werden kann. Hieraus folgt selbstverständlich, daß, wie aus Tabelle III ersichtlich, der Verdauungskoeffizient des in großen Mengen eingeführten Fettes ein recht geringer ist.

Wenn die Feststellung der Resorption aus dem Defizit im Kot Bedenken erregt, so haben diese Bedenken, wenn überhaupt, bei der Bestimmung der Fettresorption ihre Berechtigung. Eine wirklich vollständige Extraktion des Fettes ist ja, wie bekannt, schwer zu erreichen; jedenfalls schwerer in einer großen Menge wäßrigen Kotes als in der nativen Milch oder im Eidotter; es ist also leicht möglich, daß ein Teil des Defizits nicht von einer stattgehabten Resorption herrührt, sondern von dem Umstande, daß Kotfett in nicht zu vernachlässigenden Mengen der Bestimmung entgangen ist.

Den exakten Beweis, daß Fett aus einem Klysma resorbiert werden kann, haben Munk und Rosenstein[1]) vor 27 Jahren in einer höchst umsichtig angelegten und sorgfältig ausgeführten Arbeit geliefert, zu der ihnen ein Fall von Lymphfistel Gelegenheit bot. Durch vergleichende Bestimmung des Fettgehaltes der Lymphe vor und nach der rectalen Einspritzung einer Ölemulsion, wobei die Konzentration des Fettes auf das Mehrfache der ursprünglichen angestiegen war, konnte berechnet

[1]) J. Munk und A. Rosenstein, Zur Lehre von der Resorption im Darm nach Untersuchungen an einer Lymph-(Chylus-)Fistel beim Menschen. Virchows Archiv **123**, 489, 1891.

werden, daß ca. 5 % des per rectum eingeführteu Fettes resorbiert wurden.

Bemerkenswert ist der Befund von Deucher[1]), wonach ein entsprechender Kochsalzgehalt (0,6 %) einen nachweisbaren Einfluß auf die Resorption der Fette ausübt, ferner die Versuche von Lombroso[2]) sowie Baum[3]), in denen jodiertes Fett eingespritzt und die stattgehabte Resorption durch Jodnachweis im Harn erwiesen wurde.

D. Resorption der rectal eingeführten chemischen Energie. Bei dem verschiedenen spezifischen Energiegehalt der Bestandteile der Klysmengemische, resp. ihrer zum Teil sehr verschiedenen Resorptionsgrößen ist es nur selbstverständlich, daß die chemische Energie der Klysmen in den verschiedenen Versuchsperioden bald zu einem relativ großen, bald zu einem recht kleinen Anteil resorbiert wurde. Namentlich ist es selbstverständlich, daß, wenn das Fett mit seinem hohen spezifischen Energiegehalt schlecht resorbiert wird, wie an Hund B in den Versuchsperioden II und V, der Verdauungskoeffizient der chemischen Energie recht gering ausgefallen ist; desgleichen auch an Hund B in den Versuchsperioden II, IV und V.

Versuchsreihe	Versuchsperiode	Chem. Energie im Klysma ohne Fett kg-Cal.	Chem. Energie im Kot ohne Fett kg-Cal.	Von der chemischen Energie resorbiert	
				fetthaltig berechnet %	fettfrei berechnet %
A	II	184,9	113,0	27,7	38,9
	V	241,3	98,1	41,6	59,3
	VI	249,8	112,8	41,2	54,8
B	II	157,7	71,0	34,2	55,0
	IV	176,9	98,7	27,9	44,2
	V	164,2	101,9	25,7	38,0

Daß dem so ist, läßt sich übrigens ohne weiteres beweisen,

[1]) P. Deucher, Über die Resorption des Fettes aus Klystieren. Deutsches Arch. f. klin. Med. 58, 210, 1897.

[2]) U. Lombroso, Bemerkungen über die Resorption der Fette vom Rectum und von der Haut aus. Giornale della R. Accad. di med. di Torino. Refer. in Malys Jahresber. f. Tierchemie 32, 80, 1902.

[3]) E. W. Baum, Über den zeitlichen Ablauf der rectalen Fettresorption. Die Therapie der Gegenwart 4, 385, 1902.

wenn man in den genannten Perioden die Verdauungskoeffizienten der chemischen Energie erst in der üblichen Weise, und dann nach Abzug der sowohl im Nährklysma als auch im Kot auf Fett entfallenden chemischen Energie berechnet.

3. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Nachdem durch obige Versuche festgestellt wurde, daß die Bestandteile eines Eiweiß, Kohlenhydrate und Fett enthaltenden Nährklysmas — wenn auch in wechselnden, doch jedenfalls nicht unerheblichen Mengen — resorbiert werden, erübrigt sich noch die Frage, auf welche Weise die der Resorption offenbar vorangehende Spaltung der einzelnen Nährstoffe zustande kommt?

Die Ansichten der Autoren bezüglich der Dickdarmverdauung sind ziemlich divergierend, denn die meist geübte Art der Untersuchung, die Zustands- und Konzentrationsveränderung einzelner in Nährklysmen eingeführten Klysmenbestandteile zu verfolgen, läßt die Frage immer offen: wurde die Hydrolyse durch eigene Enzyme der Dickdarmschleimhaut vollzogen oder durch solche, die aus höheren Darmabschnitten herstammen, oder endlich durch Bakterien, denen ja nachgewiesenermaßen eine vielfältige hydrolysierende Wirkung zukommt?

Die Frage, ob die Dickdarmschleimhaut selbst Enzyme absondert oder nicht, könnte nur in Versuchen entschieden werden, in denen ein Abschnitt des Dickdarms aus der Kontinuität mit dem übrigen Darm getrennt, in die Bauchwand eingenäht würde und durch eine Fistel nach außen kommunizierte.

Aus solchen Versuchen[1]) ging nun hervor, daß in dem spärlichen Sekret Erepsin, Amylase, Maltase und Invertin enthalten sind, jedoch weder ein Enzym, das befähigt ist, natives Eiweiß zu spalten, noch auch Lactase oder Lipase. Es wäre also in meinen Versuchen bloß die Verzuckerung der Stärke erklärlich, jedoch nicht die Spaltung des Milchzuckers, der Fette und des Eiweißes.

---

[1]) Siehe in B. P. Babkin, Die äußere Sekretion der Verdauungsdrüsen. Berlin, Springer, 1914.

Nun ist aber der untere Dickdarmabschnitt, der in meinen Versuchen figuriert, durchaus nicht auf eigene, selbstabgesonderte Enzyme angewiesen, denn es ist weder daran zu zweifeln, daß die Sekretion höherer Abschnitte (Pankreas, Dünndarmschleimhaut) auch dann — wenn auch in geringerem Grade — vor sich geht, wenn längere Zeit hindurch keinerlei Nahrung per os eingeführt wurde; — noch auch daran, daß die Enzyme dieser Sekrete zum Teil jedenfalls noch in aktivem Zustande in die untersten Dickdarmabschnitte hinuntergelangen. Dann ist es aber ganz gut zu begreifen, daß neben der Verzuckerung der Stärke auch eine Spaltung von nativen Eiweißkörpern und von Fett stattfindet.

Wie steht es nun mit der Bakterienwirkung? Da, wie erwähnt, den Bakterien vielfache hydrolysierende Wirkungen zukommen, ist auch ihre Mitwirkung bei der Spaltung von Klysmenbestandteilen anzunehmen. Aus unserem Standpunkte ist es jedoch einerlei, ob die der Resorption vorangehende Hydrolyse im Enddarm durch autochthone oder von oben hinuntergelangte Enzyme, oder aber durch Bakterien, richtiger Bakterien-Enzyme bewerkstelligt worden ist. Anders steht es jedoch um tiefergreifende Bakterienprozesse, wie etwa Gärungen, die in dem (S. 231) erwähnten Sinne eine Resorption vortäuschen könnten, wo doch nur eine derartige Veränderung des betreffenden Nährstoffs stattgefunden hat, demzufolge derselbe der Bestimmung entgangen ist.

Die Entkräftung dieser Bedenken wurde ebenfalls bereits vorweggenommen; hier nur so viel, daß gerade die von mir getroffene Versuchseinrichtung, in der eine tägliche gründliche Spülung des Enddarms vorgesehen ist, geeignet ist, derlei Zersetzungen wenn auch nicht zu verhindern, doch jedenfalls auf ein geringes Maß zu beschränken.

Anhangsweise sei hier mitgeteilt, daß ich den Versuch gemacht habe, proteo-, lipo- und amylolytisches Enzym in dem Waschwasser des Enddarmes nachzuweisen. Dieses wurde, nachdem es bereits möglichst rein ablief, zentrifugiert und die klare Flüssigkeit teils mit Blutserum, teils mit gut emulgiertem Fett, teils mit gelöster Stärke unter Zusatz von Toluol bei 40° im Thermostaten stehen gelassen. Die stattgehabte Eiweißverdauung konnte an der Abnahme des koagulablen Eiweißes, Fettspaltung

durch die Einnahme der freien Fettsäuren, die Amylolyse aber am Auftreten reduzierenden Zuckers erkannt werden. Das Ergebnis dieser Versuche war, daß die Anwesenheit eines proteolytischen oder lipolytischen Enzyms sogar nach 48 Stunden nicht konstatiert werden konnte; hingegen war eine Verzuckerung der Stärke bereits nach $1^1/_4$ Stunden nachzuweisen.

Bei der überaus großen Verdünnung, in der sich die Enzyme bei dieser Versuchsanordnung befunden haben mußten, spricht der negative Befund nicht gegen die Anwesenheit der beiden erstgenannten Enzymarten; um so beweisender ist jedoch der positive Ausfall der Stärkeverzuckerungsprobe, die zudem so frühzeitig sich zeigte, daß an eine Bakterienwirkung hier gar nicht zu denken ist.

Wenn wir uns zum Schlusse die Frage vorlegen, ob durch rectale Ernährung mit einem möglichst sorgfältig zusammengestellten Nährgemisch das Leben eines Hundes gegenüber einem solchen, der überhaupt nicht ernährt wird, verlängert werden kann oder nicht, müssen wir diese Frage mit großer Vorsicht beantworten. Hund A wurde nach vorangehender, 4 Tage lang währender Karenz 28 Tage lang per rectum ernährt und dann getötet; Hund B hungerte ebenfalls erst 4 Tage lang und wurde dann 34 Tage lang per rectum ernährt (während der letzten 12 Tage fand keine Untersuchung der Entleerungen statt), bis er verendete. Halten wir uns bloß an Hund B, der demnach 38 Tage lang am Leben erhalten werden konnte, ohne per os Nahrung zu erhalten, werden wir an dieser Tatsache nichts Merkwürdiges finden, denn in der Literatur sind ja zahlreiche Beispiele dafür bekannt, daß Hunde bei vollständiger Karenz noch weit länger am Leben bleiben.

Es könnte nun noch immerhin sein, daß wenigstens der Körperbestand der Tiere infolge der rectalen Ernährung langsamer abnimmt als bei absoluter Karenz. Hierüber gibt uns das Verhalten des Körpergewichtes Aufschluß, dessen Daten in den 3. bis 5. Stab der Tabelle III eingetragen sind. Es läßt sich aus diesen Daten berechnen, daß Hund A während der rectalen Ernährung täglich 0,9, Hund B jedoch $1{,}2^0/_0$ seines Anfangsgewichtes eingebüßt hatte.

In nachstehender Tabelle habe ich einige aus der Literatur bekannte Daten, die sich auf hungernde Hunde von verschiedener Körpergröße beziehen, nach absteigendem Körpergewicht geordnet, zusammengestellt. Ein Vergleich zwischen diesen und meinen Tieren ergibt, daß die rectal ernährten Hunde entschieden weniger an ihrem Körperbestand einbüßen, als die auf vollständige Karenz gesetzten im Durchschnitt aller Versuche. Der Unterschied wird noch etwas größer, wenn wir unsere beiden Tiere mit solchen der unten angeführten Reihe vergleichen, die dieselbe Körpergröße haben.

Anfangsgewicht kg	Wie lange gehungert? Tage	Gewichtsverlust in % des Anfangsgewichtes
36,1[1])	30	1,0
33,8[2])	8	1,3
33,0[2])	10	1,0
26,8[3])	4	1,1
26,3[12])	7	1,7
24,8[4])	3	1,1
21,2[13])	60	0,9
20,9[14])	4	1,8
20,0[13])	8	2,6
19,8[15])	5	1,0
14,4[13])	5	2,0
9,0[5])	4	1,4
8,8[13])	22	1,7
8,8[16])	7	1,0
8,2[6])	7	1,3
7,9[17])	14	1,3
6,7[15])	6	1,2
6,4[7])	4	1,5
5,6[8])	4	1,6
5,4[9])	4	1,7
5,4[10])	4	1,0
4,3[11])	5	2,3
	Mittelwert	1,4

[1]) Immanuel Munk, Die Fettbildung aus Kohlenhydraten beim Hund. Virchows Archiv **101**, 96, 1885.

[[2]) ff. s. Seite 235!]

Dieser Befund deckt sich übrigens vollkommen mit der Tatsache, daß, wie sich aus Tabelle III berechnen läßt, meine beiden Versuchstiere im täglichen Durchschnitt aller Versuche nebst dem eingebrachten Traubenzucker noch 1,78 resp. 2,46 g Eiweiß und 12,5 resp. 10,8 g Stärke (in Traubenzucker ausgedrückt) resorbiert hatten; außerdem an den Fett-Tagen noch 3,5 resp. 3,0 g Fett.

Bei der geringen Menge der resorbierten Nährstoffe ist es nicht zu verwundern, daß die Gewichtsabnahme der Tiere immerhin eine so bedeutende war.

Die Ergebnisse der Versuche sind, kurz zusammengefaßt, die folgenden:

1. Von dem untersten Darmabschnitt aus werden Nährstoffe, in Klysmen eingebracht, resorbiert.

2. Eiweiß des Blutserums, der Milch sowie auch

---

[2]) M. Pettenkofer und C. Voit, Respirationsversuche am Hunde bei Hunger und ausschließlicher Fettzufuhr. Zeitschr. f. Biol. 5, 370, 1869.

[3]) Max Rubner. Die Gesetze des Energieverbrauches bei der Ernährung 154, 1902.

[4]) Ebenda S. 135.

[5]) „ „ 302.

[6]) „ „ 302.

[7]) „ „ 153.

[8]) „ „ 318.

[9]) „ „ 290.

[10]) „ „ 318.

[11]) „ „ 105.

[12]) E. Leyden und A. Fränkel, Über den respiratorischen Gasaustausch im Fieber. Virchows Archiv 76, 161, 1879.

[13]) Ferdinand August Falck, Physiologische Studien über die Ausleerungen der auf absolute Karenz gesetzten Hunde. Beiträge zur Hygiene, Pharmakol. und Toxikologie 1, 39, 1875.

[14]) Carl Voit, Über die Bedeutung des Leimes bei der Ernährung. Zeitschr. f. Biol. 8, 331, 1872.

[15]) Max Rubner, zitiert bei R. Tigerstedt in W. Nagels Handb. der Physiol. 1, 380, 1909.

[16]) Paul Hári, Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Energieumsatz und Eiweißstoffwechsel beim Hunde. Diese Zeitschr. 66, 5, 1914 (Versuchsreihe XIII).

[17]) Derselbe. Über den Einfluß der intravenösen Bluttransfusion usw. Diese Zeitschr. 34, 116, 1911 (Hund D vom 29. IV. bis 13. V.).

des Fleischmehls werden in nicht sehr ansehnlichen Mengen, jedoch zweifellos resorbiert, was sich auch durch eine erhebliche Veränderung der Eiweißbilanz dokumentiert.

3. Wird Stärke neben Trauben- oder Milchzucker eingegossen, so ist die Menge der im Kot übrigbleibenden Kohlenhydrate so gering, daß sämtlicher Zucker, und überdies noch ein bedeutender Teil der Stärke als resorbiert angesehen werden muß.

4. Fett wird zweifellos resorbiert, jedoch an ca. 7 resp. 4 kg schweren Hunden nur in einer Menge von etwa 3 bis höchstens 4,7 g. Durch Mehreinfuhr an Fett kann dessen Resorption nicht gesteigert werden.

5. Der Körperbestand hungernder Hunde wird durch die rectale Ernährung nur wenig vor dem Zerfall geschützt; auch läßt sich ihr Leben auf diese Weise nicht verlängern.

Diese Arbeit wurde auf Anregung und unter der Leitung des Herrn Prof. Tangl ausgeführt.

Über das Vorkommen von Phosphaten im menschlichen Blutserum. VI.

Säurelöslicher Phosphor und Restphosphor bei Krankheitszuständen C[1]).

Zur Frage der Beziehungen zwischen Lipoidphosphor und Restphosphor.

Über die „Lecithinämie bei Geisteskrankheiten".

Von

Joh. Feigl.

(Aus dem Chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 3. Februar 1918.)

In den vorhergehenden Mitteilungen zur Frage des Vorkommens und der Erscheinungen der Phosphatämie ist ab-

Literatur. H. Beumer und M. Bürger, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **13**, 343, 1913. — W. R. Bloor, zit. bei J. Feigl (über Ödem und über Leberatrophie. III). — A. Bornstein, Über die Lecithinämie bei Geisteskrankheiten, Zeitschr. d. ges. Neurol. Psychiat. **6**, 605, 1911 (hauptsächliche Arbeit) sowie Monatsschr. f. Psychol. u. Neurol. **25**, 160, 1909 sowie Ges. d. Irrenärzte Niedersachsens, 1908. — Joh. Feigl, Über Phosphate im Blutserum. I. Diese Zeitschr. **81**, 380 bis 420, 1917. II bzw. III bzw. IV ebda **83**, 218 bis 227, 1917 bzw. **83**, 81 bis 95 bzw. **84**, 232 bis 245 (darin Rest-P.). — Derselbe, Über Ödemkrankheit. I. Diese Zeitschr. **1918**. — Derselbe, Über akute gelbe Leberatrophie. III. Ebda. **1918** (darin siehe Javal und Boyet, Imrie, Müller und Reinbach, Terroine, Frank und Isaak, Rumpel und Knack u. a.). — Derselbe (mit H. Luce), Über akute gelbe Leberatrophie. I. Diese Zeitschr. **74**, 162 bis 202, 1917 (Festschr. für Orth). — Derselbe (mit H. Luce), Dasselbe. IV. Diese Zeitschr. **1918**. — Derselbe (Über Phosphate. V), diese Zeitschr. **1918**. — W. Klein und L. Dinkin (Lipoide des menschlichen Serums), Zeitschr. f. physiol. Chem. **92**, 303 bis 330, 1914. Darin Fingerling, Gregersen, Pighini, Reicher u. a. — G. Peritz, Berl. klin. Wochenschr. **1908**, 103. — Derselbe, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. **5**, 607, 1908/09. — S. Sakai, Zur Pathogenese der Lipämie, diese Zeitschr. **62**, 387 bis 445, 1914, s. dort Fischer, Klemperer, Umbor und zahlreiche Literatur. S. Fränkel, Mott u. a. s. später.

[1]) Mitteilung III ist A, Mitteilung IV (nicht als solche bezeichnet) B.

schnittsweise das folgende diskutiert und experimentell untersucht worden. Zunächst wurde der „säurelösliche“ Phosphor gegensätzlich zum nichtlöslichen (in den betreffenden Extraktionsmitteln und Solventien), der vorwiegend, ja praktisch ganz als lipoidischer, fällbarer aufgefaßt wurde, zur Darstellung gebracht. Später ließ sich die eingangs ventilierte Auffassung über die komplexe Natur dieser Größe bei näherer Untersuchung innerhalb gewisser Grenzen prüfen und belegen. Der experimentelle Weg war die Trennung vorgebildeten Orthophosphates von einem daneben bestehenden Anteile, der unter der Bezeichnung „Restphosphor“ in die Diskussion gestellt wurde. Die gewählte Methodik, obschon nur mittelbarer Betrachtung zugänglich, zeigte die Variabilität der komplexen Restgröße an. Der nächste Schritt mußte getan werden in dem Bestreben, die bis dahin rein rechnerisch formulierte Größe zu einer solchen in absoluten, direkt gewonnenen Zahlen zu machen. Diese Aufgabe gelang bei der Untersuchung extrem pathologischer Seren in dem Sinne, daß der rechnerische „Restphosphor“ innerhalb gewisser Grenzen mit dem selbständig bestimmten annehmbare Übereinstimmung zeigen konnte. Einschränkend ist bei der Erörterung der einschlägigen Verhältnisse hervorgehoben worden, daß die Möglichkeit offen bleiben müsse, nach der es sich nicht um vorgebildete Substanzen oder Fraktionen bzw. analytische Begriffe handeln könne, sondern um Eigenschaften höher komplizierter Serumstoffe, die unter den Eindrücken der alkalischen oder sauren Reaktionsmittel zu einem (gewissen) hydrolytischen Zerfalle veranlagt seien. Dieser Begrenzung der gewonnenen Ergebnisse wurde dann wiederum entgegengehalten, daß es, sofern einmal praktische Interessen und direkte Nutzbarmachung die vorgeschlagenen Begriffe in den Gesichtskreis rücken würden, zum Teile von minderer Bedeutung sein könne, ob diese Fraktionen oder Stoffe präformiert seien. Immerhin wurde dieser Denkweise keine alleinige Führung zugestanden. Verf. hat sich darum bemüht, die Frage der Phosphatämie mit ihren Gliedern methodisch und deskriptiv so darzustellen, daß sie den tatsächlichen Verhältnissen so nahe wie möglich käme.

Was nun die Gesamtheit der vorgelegten, zahlenmäßigen Ergebnisse angeht, so ist zu sagen, daß das ziemlich umfang-

reiche Material dem säurelöslichen P, aber auch dem Orthophosphat-P, schließlich dem restlichen P weite Variationen im Bereiche pathochemischer Umstimmungen zusichert. Ferner kann der Nachweis als gelungen betrachtet werden, daß in vielen Fällen bestimmte, wohlumschriebene Bilder für gewisse Krankheitserscheinungen sich darstellen lassen, daß aber Übergänge bestehen, an die sich weitere Aufgaben knüpfen müssen. In einer neueren Mitteilung wurden einzelne Fragestellungen aufgeführt und beschrieben, auf die die Weiterarbeit stoßen muß.

In dem vorliegenden Abschnitte soll es sich darum handeln, zwischen dem „Restphosphor" einerseits und dem fällbaren „Lipoidphosphor" andererseits eine Brücke zu schlagen und an geeigneten, pathochemischen Abartungen ihre gegenseitigen Beziehungen zu erläutern. Bisher ist der „Restphosphor" ganz als „Teilerscheinung des säurelöslichen P", und zwar vorwiegend auf der Basis methodisch-analytischer Verhältnisse, diskutiert worden. Naturgemäß hat die Beschreibung aller derjenigen Fälle, bei denen unter energischen Destruktionen des Rest-P in hohen, zahlenmäßigen Befunden (absolut und in Prozenten des komplexen, säurelöslichen Gesamtphosphors) erschien, immer wieder nach Anknüpfungen gesucht, die die Verknüpfung der fraglichen Größe zu erläutern vermöchten. Wie dem auch sein möge, es hat die Möglichkeit Beachtung gefunden, daß der Rest-P aus organischen Phosphorylen beliebiger Struktur bei deren beschleunigtem Zerfalle etwa auf heterolytischem oder partiell-hydrolytischem Wege gebildet würde, was für die meisten Fälle zutreffen muß. In besonderen Zuständen muß dagegen eine Möglichkeit bestehen, bei der eine Hyperlecithinämie den (hauptsächlichen) Ausgangspunkt enthält. Diese Fragestellung führt uns in das weite Gebiet der Lipämien schlechthin.

Die seit langem bekannten, pathologischen Lipämien wurden anfangs fast ausschließlich unter dem Gesichtswinkel einer Fettanreicherung behandelt. Später betonten Klemperer und Umber die Tatsache, daß es sich zumeist um Anhäufungen von Fett und Lipoiden handele. Anknüpfend an diese, bald mehr oder minder ergiebig belegte Anschauung haben u. a. Beumer und Bürger über pathochemische Materialien berichtet, hat ferner auch Sakai sich mit der Beschreibung von Tatsachen über pathologische Lipämie (Anämie) beschäftigt. Dabei gelangte er zu dem Schlusse, daß das Fett (und die Lipoide) im Blute gefangen bzw.

„blockiert“ sei; es fehle an den Kräften, die seinen Abbau als Voraussetzung zur Fortbewegung gemeinhin vollziehen, in beträchtlichem Maße. B. Fischer hatte in schweren Fällen das Gesamtfett der gesamten Blutmenge zu 700,0 g veranschlagt. Neuere Autoren, die speziell über den Lecithingehalt des pathochemischen Blutfettes berichteten, nannte Verf. a. a. O. Javal und Boyet fanden 33 % (!) und 21 % Phosphatid bei Diabetes, 21 % bis 73 % des Gesamtätherlöslichen bei syphilitischer Aortitis, Johs. Müller (mit Reinbach) einmal bei „maskierter“, diabetischer Lipämie rd. 33 %. Wir gelangen auf diesem Wege zur Frage der Lecithinämie pathologischer Grade, sowohl in absoluter wie erst recht in relativer Betrachtung (deren letztere in den Relationen zu Fettsäuren und Cholesterin nach Terroine u. a. besonders nach Bloor sich ausprägte). Mit Zahlenverhältnissen argumentierten nach dem Vorgange von Klemperer und Umber, Magnus-Levy, Sakai sowie andere.

Nun hat Verf. seinerseits Anlässe beobachtet, bei denen es zum Schwund der Phosphatide kommt und gefunden, daß parallel in gewisser Verbindung der nicht kolloide (der „säurelösliche“) Phosphor absolut und relativ ansteigt.

Es handelt sich um sogenannte reine Inanitionen, um Herabstimmungen des Stoffwechsels nach schweren Dysenterien, um avitaminosoïde Zustände und um echte Avitaminosen. Bei allen diesen entsprach einem gesenkten (schon u. U. einem sinkenden) Lipoid-P ein steigender, säurelöslicher P. Auf diesem Wege fortfahrend, erschien der Betrachtung an Hand der Anschauung des Rest-P das Ergebnis, daß eben dieser zu relativ und absolut beträchtlichen Graden ansteigen könne. Rumpel und Knack sowie Verf. ventilierten die Frage unter dem Gesichtspunkte, daß z. T. ein Versagen der Lipoidsynthese (bzw. auch des Nucleoproteidaufbaues) anzunehmen sei, da es an Fettkomponenten (endogenen wie exogenen) Ursprungs fehle. Die Tatsache der Fettverarmung hat Verf. im Sinne der Konstanten und Methoden von Bloor, die den Durchschnitt der allgemeinen Angaben halten, ergiebig in plasmachemischen Angaben belegt. Die Unterlagen für die Annahme einer Synthese von Phosphatiden aus Phosphaten liefern Fütterungsversuche von Fingerling und von Gregersen. Auch Reichers Befunde könnten ähnlich ausgedeutet werden, der bei Fettfütterung schlechthin ein erhebliches Zuwachsen des Lipoid-P als indirekt bewiesen nach seinen Versuchen anzunehmen geneigt ist.

Nun finden sich in der Literatur Angaben von Stepp, Roehl, Heubner u. a., die darauf hinweisen, daß Lecithin eine unerläßliche Nahrungskomponente sei, die u. U. auch durch Gaben anorganischer Phosphate in ihrer Ausfallwirkung nicht kompensiert werden könne. Dabei wird man ohne die Annahme weiterer „Vitamine“ nicht auskommen, wie denn die ganze Sache noch widerspruchsvoll ist. Dezani fand beim Hungertode an Tieren u. U. Cholesterinmangel, den er als Ursache ansah. Diese Angaben beanspruchen mittelbares Interesse.

Wie man aus diesen Angaben ersehen kann, besteht in gar nicht so engem Grade eine ersichtliche Parallelität zwischen gesenktem Lipoid-P und erhöhtem, krystalloiden Nichtlipoid bzw. Rest-P. Verf. wird diesen später weitere Fälle aus der Pathologie einfügen.

Nun mögen die Untersuchungen des Verf. über Fett und Lipoidbestände des Blutes bei Leberatrophie folgen. Auf die Diskussion in der betreffenden Arbeit sei hingewiesen. Die Tatsachen waren anfängliche Phosphatidvermehrung, wie sie von Reicher bei P-Vergiftung gesehen und zur beschleunigten Synthese gedeutet wurde. Dann folgte schrittweise eine merkliche Lipoid-P-Verarmung mit Verschiebung aller Relationen in ein ganz verzerrtes Extrem. Gleichzeitig schnellten der säurelösliche P, aber gerade der Rest-P meistens gewaltig hinauf. Über die Rolle des Lecithins im Organ bei Autolyse wurde a. a. O. gesprochen.

Nun ist in gerade diesen Verhältnissen, obschon Lecithinschwund und Übergang in anorganische bzw. andere, lösliche Phosphorylkomplexe nach großen Umstimmungen parallel gehen, keineswegs einzusehen, daß man reine, lecithinolytische Spiegelbilder vor sich habe. Vielmehr ist die Purinumstimmung, der Zerfall von Parenchym und Kernen mit im Spiele, wie auch gewaltige Eingriffe in den intermediären Kohlenhydratstoffwechsel gesehen werden. Beide müssen zu ihrem Teile den Rest-P mit beeinflussen. Es wurde daher Ausschau gehalten nach destruktiv gedeuteten bzw. deutbaren Lecithinämien pathochemischer Natur. Eine gewisse Erleichterung konnte u. E. aus der wohl unbestrittenen Tatsache hergeleitet werden, daß auch die „lipämischen“ Phosphatide den empfindlichsten Teil des Gesamtkomplexes darstellen, daß sie fermenthydrolytisch zunächst erfaßt werden und daß sie bei allen Destruktionen, Autolysen und selbst bei alimentären Einflüssen den ersten Angriffspunkt bilden.

Ob unter diesen Annahmen die Hyperlecithinämie bei pathologischen Lipämien, spez. bei Diabetes, wirklich im gleichen Grade mit der Theorie der „Blockierung“ aus Mangel an Fermentkräften, wie Fette und Cholesterinester, verknüpft zu werden verdienen, ist eine offene Frage. Wir kommen auf diese bei der Mitteilung deskriptiver Beobachtungen über pathologische Lipämien (u. a. bei Lebercirrhose, Nephritis) zurück.

Klemperer vertritt die Anschauung, die Lipoidämie der Diabetiker komme durch vermehrten Aufbau und Abbau von Zellen zustande; sie sei nichts anderes als der Ausdruck einer Mobilisierung von Lipoiden zum Aufbau neuer Zellen. Hierüber ist viel gestritten worden; Weil schloß sich dieser Deutung an.

Nun haben wir tatsächlich solche diabetische Fettsera unter den Händen gehabt, die unter allen Kautelen behandelt und analysiert, einen säurelöslichen P neben einem restlichen P zeigten, die (beide) weit über die Variationsbreite der Norm und sonstiger Verhältnisse hinausgehen. Relativ, und das ist wohl die eine Ursache der bisherigen Unterlassung (abgesehen von den Methoden) entsprechender Aufklärungsversuche, spielten natürlich diese Beträge gegenüber dem Phosphatid P eine sehr untergeordnete Rolle, die den Beziehungen der allgemeinen Norm noch nachstehen kann. Immerhin ist also hier mit Sicherheit auf gelegentlich erhöhten Rest-P zu rechnen. Dessen Zusammenhänge sind indes nicht eindeutig, und die Verknüpfung nicht zwingend nur auf Lecithin hingelenkt, da der Kohlenhydratstoffwechsel, der Nucleinhaushalt und die P-Bilanz schlechthin ihrerseits in Betracht gezogen werden müssen. Wie dem auch sei, man kann Befunde, Theorie und Spekulation, so auffassen, daß hier von den Mobilisierungsvorgängen untrennbare Spaltungen und Synthesen von Lecithin eine Rolle spielen, die zu Zeiten ihre krystalloiden Zwischenprodukte reichlich und erkennbar auftreten lassen.

Diese Diskussion über Abbau und Aufbau von Zellen mit der P-Umformung bei Diabetes kann nicht ohne Berechtigung (vorwiegend Destruktion) im Studium von Erscheinungen fortgesponnen werden, die unter der Bezeichnung der Lecithinämie bei Geisteskranken beschrieben wurden.

Peritz und Bornstein[1]) haben eine solche beobachtet, und von anderen Forschern ist sie „so häufig und an einem so reichhaltigen Material“ gesehen worden, daß sie eine bekannte Pathochemie geworden ist. Ihre Ursache, deren Triebkräfte unbekannt sind, wird in einer Destruktion von Gehirnsubstanz, besonders des lipoidreichen Markes erblickt; Bornstein argumentiert weiter, daß bei diesem Abbau die Schlacken zum größeren oder geringeren Teile ins Blut gelangen, anderen Organen zur Verarbeitung zugewiesen oder ausgeschieden werden. Er bezeichnet diese Auffassung unbedenklich als Arbeitshypothese zu weiterer Beobachtung[2]).

Daß diese Theorie tiefgreifenden Zerfalles von Organsubstanz weiter verfolgt und unter anderen Gesichtspunkten beleuchtet worden ist, geht aus den Publikationen über die Cholesterinämie der Geisteskrankheiten (Pighini u. a.) hervor.

---

[1]) Bornstein beklagt sich (1911) darüber, daß sein Name neben dem von Peritz verdunkelt bzw. vergessen sei. Wir nennen diese Lecithinämie daher Bornstein-Peritzsche L. bei Geisteskrankheiten.

[2]) Über diese Ankündigung fanden wir keine Literatur.

Wenn wir uns zunächst mit der Lecithinämie beschäftigen, so muß nachdrücklich gesagt werden, daß die Sache bei näherem Zusehen nun doch nicht so einfach und eindeutig ist, wie die Berichte der anfänglichen Untersucher uns das wissen machen wollen. Wir berichten später systematisch.

Es heißt zwar kurzerhand: „die Normalwerte des Blutlecithins bewegen sich zwischen 1,6 und 2,5 ‰". Es werden Zahlenreihen aufgeführt, die sich auf Paralytiker und Epileptiker beziehen, und die im großen Ganzen 100 % Zuschlag Durchschnittswerte der Norm, oft auch weniger (50 % bis 33 %) zeigen. Keineswegs in der gewünschten Breite erzielten wir entsprechende Ergebnisse, wie Verf. schon früher (1917) sagte. Weder die Methodik, noch die Ätiologien, die sonstigen pathochemischen Eindrücke, sind genugsam abgewogen und in ihrer Reichweite und Stichhaltigkeit erörtert. Darin liegt noch ein großer Teil von Aufgaben, auf die wir in Berichten über Lipämiebilder zurückkommen.

Die anatomische Destruktion von Hirnsubstanz war nach Alzheimer, Nißl, Weber anzunehmen. Über die theoretische Weiterbildung, Einbeziehung des Hinblickes auf luetische Infektion äußert sich Bornstein, sowie über die Berechtigung der Annahme einer Lecithinverarmung, für die Befunde von Glikin und Peritz sprechen können. Peritz, der sich nach Pighini und Roehmann mit der Erwägung über die Rolle von Lipoiden im Gefüge der W.-R. beschäftigte, fand pathologische Werte für Lipoid-P im Kote seiner Patienten. Das Argumentieren mit solchen ist, wie die jüngste Literatur zeigt, aus analytischen Gründen ein ganz gefährliches Spiel. Eher schon kann die „organische" Phosphorsäure des Harns, über die Kondo systematisch arbeitete, auf richtige Grundlagen gestellt und zur Beurteilung herangezogen werden. Beide Fragen werden uns später beschäftigen.

Wenn es nun eine echte Bornstein-Peritzsche Lecithinämie, auch nachdem sie einmal im Feuer scharfer Kritik der Erkenntnismittel und der genetischen Zusammenhänge und Interferenzen abnormer Richtung gestanden haben sollte, tatsächlich gäbe, so müßte folgendes geprüft werden. Gleichzeitig würde das Serum im Sinne von Sakais Beobachtungen jener fermenthydrolytischen Kräfte ganz oder zum Teil entblößt sein, die die „Blockierung" aufheben. Oder aber, das Lecithin muß im Plasma, dem es fremd sein kann (eventuell sekundäre Bindung), vielleicht anderen Ortes, zerfallen. Zu-

Tabelle.

Die „Lecithinämie der Geisteskranken" in Gegenüberstellung mit der Hyperphosphatämie. Säurelöslicher und Restlicher Phosphor bei Krankheitszuständen C.

Fälle: Paralytiker, Tabiker und (wenige) Epileptiker.

Anordnung: In Gruppen nach den Stufen der Lecithinämie in mg für 100 ccm.

Angaben: Zahlen für die Lecithinämie, für den säurelöslichen und restlichen Phosphor, erstere in mg für 100 ccm, letzterer in Proz. der komplexen Größe, s. Verf. l. c.

Befunde: Verteilung in Proz. nach der Gesamtzahl der Fälle in den Gruppen.

Normalien und Analysen nach Bloor, Feigl, Greenwald.

Gruppe der Gesamtreihe. Orientiert nach dem Plasmalecithin in Stufen	Anzahl der Fälle in den Gruppen	Lecithin isoliert als Lipoid-P nach Greenwald, berechnet als Lecithin nach Bloor. Normalien (Bloor-Feigl) Durchschnitt 220,0 mg bis 200,0 mg, Extreme 150,0 mg bis 270,0 mg	Säurelöslicher P isoliert und bestimmt nach Greenwald. Allgemeine obere Grenze 5,0 mg. 1. Variationsbreite der betr. Zahlen. 2. Prozent der Fälle oberhalb der Norm schlechthin. 3. Prozent der Fälle oberhalb 8,0 mg	Restphosphor nach getrennter Bestimmung des Orthophosphat-P berechnet nach Feigl. Allgemeine Variationsbreite 8,0 % bis 23,0 %, Mittel 15 % des säurelöslichen P. 1. Variationsbreite der Befunde. Angabe nur nach dieser Prozentzahl, wiederum in Proz. der betr. Fälle. 2. Befunde über 20 % überhaupt. 3. Befunde über 25 %
A niedrig normales Lec.	6	130,0 mg bis 180,0 mg Lec.	**4,0** mg bis **18,0** mg S.P. 66 % über 5,0 „ „ 48 % „ 8,0 „ „	**16** % bis **37** % Rest-P 66 % üb. 20 % „ 53 % „ 25 % „
B mittel normales Lec.	10	180,0 mg bis 220,0 mg Lec.	**4,0** mg bis **12,0** mg S.P. 80 % über 5,0 „ „ 50 % „ 8,0 „ „	**12** % bis **41** % Rest-P 70 % üb. 20 % „ 52 % „ 25 % „
C hoch normales Lec.	10	220,0 mg bis 280,0 mg Lec.	**3,5** mg bis **16,0** mg S.P. 80 % über 5,0 „ „ 50 % „ 8,0 „ „	**14** % bis **40** % Rest-P 80 % üb. 20 % „ 50 % „ 25 % „
D gering erhöhtes Lec.	22	280,0 mg bis 320,0 mg Lec.	**3,0** mg bis **14,0** mg S.P. 67 % über 5,0 „ „ 42 % „ 8,0 „ „	**10** % bis **35** % Rest-P 68 % üb. 20 % „ 34 % „ 25 % „
E mäßig erhöhtes Lec.	25	320,0 mg bis 400,0 mg Lec.	**3,5** mg bis **17,0** mg S.P. 56 % über 5,0 „ „ 32 % „ 8,0 „ „	**9** % bis **34** % Rest-P 60 % üb. 20 % „ 48 % „ 25 % „
F stark erhöhtes Lec.	10	400,0 mg bis 500,0 mg Lec.	**3,0** mg bis **22,0** mg S.P. 80 % über 5,0 „ „ 30 % „ 8,0 „ „	**7** % bis **35** % Rest-P 60 % üb. 20 % „ 30 % „ 25 % „

sammengehalten mit allen übrigen Befunden im Harn und Blut usw. (organische P_2O_5, fraglicher Fettanstau!) ist dieses „Gefangensein“ des destruktiven Gehirnlecithins doch eine eigenartige Sache, an deren Prüfung ganz energisch herangetreten werden muß.

Nun stehen wir jetzt, z. T. schon früher und sicher noch für längere Zeit, großen Schwierigkeiten gegenüber, allgemein zutreffende Fett- und Lecithinwerte des Plasmas für alle möglichen Zustände zu beschaffen, weshalb unsere Materialien vorläufige sein sollen, soweit sie speziell das Lecithin betreffen. Dagegen meinen wir, mit dem Rest-P der einmal in Fluß geratenen, dann wieder fast aus der Diskussion geschwundenen Angelegenheit der Lecithinumformung eine neue Wendung geben zu können. Manches werden hier, wie gesagt, die als notwendig angesehenen, sonstigen Fragestellungen und Methoden erschließen müssen.

Befunde.

1. Senkung des Blutlecithins (Lipoid-P) und Umstimmung des krystalloiden P mit Einschluß des Rest-P bei der Lagererkrankung,
   s. diese Zeitschr. 1918 (Feigl, Ödemerkrankung I).

2. Senkung des Blutlecithins usw. bei allgemeiner Inanition, ebenda.

3. Bewegungen von Lipoid-P, säurelöslichem P, restlichem P bei akuter gelber Leberatrophie (nach vorübergehender Erhöhung für den ersteren), Senkung für den ersteren und Steigung für den letzteren,
   s. diese Zeitschr. 1917 (Feigl, Luce, Mitteilung I),
   s. diese Zeitschr. 1918 (Feigl, Mitteilung III),
   s. diese Zeitschr. 1918 (Feigl, Luce, Mitteilung IV).

4. Verhalten des Abbaues von Lipoid-P nach den genannten Bestimmungsstücken bei Avitaminosen u. a.,
   s. diese Zeitschr. 1917 (Feigl, Phosphate III),
   s. diese Zeitschr. 1918 (Feigl, Ödemerkrankung I).

5. Säurelöslicher P bei gewissen Geisteskrankheiten u. a.,
   s. diese Zeitschr. 1917 (Feigl, Phosphate I).

Vorstehend benannte (und weitere) einschlägige Ergebnisse seien aus Gründen der Raumersparnis an dieser Stelle nicht näher aufgeführt, daher die Originalstellen angezogen.

6. Über die Bornstein-Peritzsche Lecithinämie bei Geisteskrankheiten und ihre Gegenüberstellung zu Befunden über säurelöslichen und restlichen P.

Unsere Befunde an Tabikern, Paralytikern und (vereinzelten) Epileptikern sind anschließend aufgeführt. Aus Gründen der Raumersparnis ist das gesamte Material soweit wie angängig zusammengedrängt, wobei allerdings durch das Schema und seine Intervalle ein gewisser, nivellierender Einfluß über extreme, tatsächliche Bilder und Feinheiten hingeht. Die Anordnung der Befunde in der Tabelle findet sich auf dieser selbst erklärt. Es handelt sich durchaus um Nüchternwerte ziemlich konstant gehaltener Fälle.

Die Befunde lehren einmal, daß es mit dem Vorkommen von wirklichen Hyperlecithinämien nicht soweit her ist, wie bisher angenommen wurde. Der säurelösliche Phosphor kommt erheblich gesteigert vor, besonders der Restphosphor, welcher nach Prozenten des ersteren weit die Norm überschreitet. Absolut erscheint er bestimmt zu 7,0 mg, einer tatsächlichen Grenzzahl der bisherigen Beobachtungen überhaupt. Mit der schematischen Staffelung, z. B. 5,0 mg und 8,0 mg Sre. P als Grenzen für die Beurteilung, entzieht sich der genauere Einblick zum Teil. Es ist nicht ganz von der Hand zu weisen, daß steigender Lecithingehalt (relativ) sinkendem Säurelöslichem P gegenübertreten kann, eine Kombination, die im Untersuchungsprogramm der Lipämien zu prüfen sein wird. Das Vorkommen erhöhter Werte für den restlichen P, der dem säurelöslichen seine Gestalt mitverleiht, ist ein so breites, und gegenüber der Lecithinämie, deren Begutachtung ja erschwert ist, so konstantes, daß ihm eine mindestens gleiche, wo nicht höhere Bedeutung schon jetzt zugewiesen werden kann, was das vorliegende oder ein ähnliches Material angeht. Auf die ganze Frage wird, wie bereits betont, die Erörterung an Hand von Einzelanalysen noch einmal zurückkehren müssen.

Schlußsätze.

In der vorstehenden Mitteilung wird die Frage nach der Verknüpfung von Lipoidphosphor mit dem Restphosphor angeschnitten und für letzteren ein weiterer Kreis bestimmter Krankheitsfälle zur Prüfung herangezogen. Die Lecithinämie der Geisteskrankheiten wird besprochen und mit der Anschauungsform des Restphosphors verbunden, der seinen Wert erweist.

Für freundliche Überlassung von Material ist Verf. den Herren Dr. Kafka, Lab.-Vorst. an der Irrenanstalt Friedrichsberg (Hamburg), Dr. Holzmann, Leiter der Korps-Nervenstation des IX. A.-K. (Hamburg), und Dr. Knack, Sek.-Arzt am Krankenhause Barmbeck, zu Dank verpflichtet.

Über die Mikrobestimmung des Blutzuckers.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 22. September 1917.)

Mit 1 Figur im Text.

In dem Laufe der Zeit, seitdem meine Mikromethode zur Blutzuckerbestimmung veröffentlicht wurde, ist das Verfahren von vielen Forschern kritisch nachgeprüft worden. Die Urteile sind allgemein günstig gewesen, und das Verfahren hat dementsprechend eine recht verbreitete Verwendung gefunden. Ganz übereinstimmend wird jedoch hervorgehoben, 1. daß das ursprüngliche Verfahren etwas zu hohe Werte für Zucker liefert und 2., daß es absolut notwendig ist, die Vorschriften peinlich genau zu befolgen. Allein dadurch lassen sich die der Methode anhaftenden Fehlerquellen beseitigen. Dank einer kleinen Veränderung der Zusammensetzung der Extraktionsflüssigkeit ist schon der erste Mangel erledigt worden. In der vorliegenden Mitteilung sollen Maßregeln besprochen werden, durch die die übrigen Fehlerquellen größtenteils ausgeschaltet werden können. Hierdurch ist zugleich das ganze Verfahren recht bedeutend einfacher geworden.

Die Vorschrift ist jetzt folgende: Nachdem 100 bis 120 mg in ein gewogenes Papierstückchen aufgesaugt worden sind, wird das Gewicht wieder mittels Torsionswage festgestell. Ungefähr 5 Minuten später, wenn das Blut in das Papier eingesaugt worden ist und das Papier nicht mehr feucht aussieht, wird es in ein Probierröhrchen übergeführt und hier mit 6,5 ccm Salzlösung in der Kälte versetzt. Die Salzlösung enthält 200 g KCl, 1,5 g Uranylacetat und 0,75 ccm 25 % HCl pro Liter.

Hierdurch wird eine vollständige Eiweißkoagulation erzielt, während die frühere Verwendung von kochender essigsaurer KCl-Lösung nur eine unvollständige Koagulation bedingte. Eiweißspuren gingen in die Lösung über und verbrauchten später Jod bei der Titration. Dadurch bekommt man den übrigens recht konstanten Mehrbetrag von Zucker im Vergleich mit der Makrobestimmung. Nach Einführung von Uran ist aber die Übereinstimmung gut. Die Uranmethode besitzt weiter den Vorteil, daß das Eiweißkoagel besser am Papier haftet. Verwendet man die vorschriftsmäßigen Papiersorten — Löschpapier, nicht Filtrierpapier —, so bleibt die Flüssigkeit immer wasserklar ohne die losgerissenen Spuren von Eiweiß. Eine folgende Filtration ist also durchaus überflüssig. Im Laufe einer halben Stunde ist der Zucker quantitativ ausdiffundiert. Die Lösung wird dann in einen 50 ccm-Jenakolben übergeführt. Das Papier wird mit 6,5 ccm Salzlösung ausgewaschen und diese mit der ersten Lösung vereinigt. Nach Zusatz von 1 bis 3 ccm der „Kupferstammlösung“ (160 g $KHCO_3$, 100 g K_2CO_3 und 4,4 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ per Liter) wird die Flüssigkeit zum Sieden erhitzt und genau 2 Minuten im Kochen gehalten. Man kühlt nun augenblicklich unter dem Wasserhahn ab und bestimmt das gebildete und hier in Lösung gebliebene Kupferoxydul durch Titration mit $^n/_{100}$ bis $^n/_{200}$-Jodlösung. Da das Kupferoxydul aber rasch von der Luft oxydiert wird, ist es notwendig, die Luft während der Abkühlung und Titration fernzuhalten. Während der Titration geschieht dies durch Zuleitung von Kohlensäure.

Zwei Umstände bilden die wesentlichen Schwierigkeiten bei dieser Methode. Erstens die Intensität des Kochens und zweitens die Luftoxydation während der Titration.

Zwar ist es von großer Wichtigkeit, daß man genau 2 Minuten kocht. Doch ist diese Vorschrift sehr einfach zu befolgen, wenn man über eine Kontrolluhr verfügt. Gewöhnlich setzt das Kochen momentan ein. Sollte dies nicht eintreffen, markiert man als Anfang des Kochens den Moment, wenn ein lebhaftes Kochen beginnt und also nicht, wenn die ersten Gasblasen auftreten.

Dagegen ist die Intensität des Kochens schwieriger zu überwachen. Man muß unbedingt den Brenner so einregulieren,

daß die Flüssigkeit (15 ccm) 90 Sekunden bis zum Anfang des Kochens braucht, nachdem der Kochkolben auf das Drahtnetz gestellt worden ist. Mehr als höchstens 5 Sekunden kürzer oder länger darf diese Zeit nicht variieren. Folgende Versuche können diese Tatsache illustrieren: 0,2 ccm einer 1 $^0/_{00}$ Zuckerlösung wurden überall verwendet. 90 Sekunden = 0,20 mg und 0,20 mg, 68 Sekunden = 0,250 mg und 0,245 mg, 62 Sekunden = 0,29 mg und 0,29 mg Zucker gefunden. Man muß also die Flammenhöhe sehr genau einregulieren. Einmal einreguliert, fungiert aber der Brenner leider nicht tadellos, da der Gasdruck meistens sehr schwankend ist. Besonders ist der Unterschied zwischen Vor- und Nachmittag (jedenfalls hier in Lund) so groß, daß ebenso große Differenzen wie in den referierten Versuchen eintreten können. Man muß infolgedessen mehrmals täglich den Brenner aufs neue einstellen. Eine genauere Untersuchung hat aber gelehrt, daß bisweilen — besonders nachmittags — ganz beträchtliche Variationen des Gasdruckes unaufhörlich vorkommen. Große Schwankungen im Laufe einer Minute sind gar nicht selten vorkommend (jedenfalls hier).

Es ist deswegen sehr wünschenswert, eine Regulatorvorrichtung des Gasdruckes einzuschalten. Solche Regulatoren sind bekanntlich auch käuflich. Die billigeren Sorten sind aber wenig haltbar. Im folgenden wird ein sehr einfacher und dazu äußerst genauer Regulator beschrieben, wozu ich meinem Freunde, Prof. Bock, die Idee verdanke[1]).

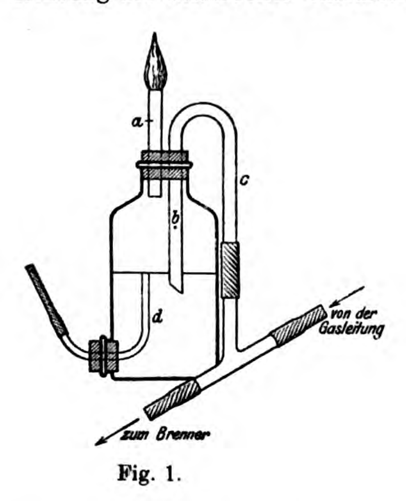


Fig. 1.

Wie aus Fig. 1 ersichtlich, wird das Gas von der Gasleitung teils zum Bunsenbrenner und teils zum Regulator geleitet. Die Regulationsvorrichtung besteht darin, daß

[1]) Unabhängig von mir, hat Ege in Kopenhagen einen ähnlichen Regulator konstruiert, der doch in einigen Details verschieden ist (Ugeskrift f. laeger 1917).

das Gas einen konstanten Widerstand von Wasser zu überwinden hat. Sinkt der Gasdruck, wird also relativ mehr Gas zum Bunsenbrenner geführt und umgekehrt. Um eine exakte Regulation selbst bei großen Schwankungen des Gasdruckes zu erzielen, müssen die Glasröhren *a* und *c* einen inneren Diameter von 8 mm besitzen. Weiter ist das im Wasser niedertauchende Rohr *c* unten schief abgeschnitten. Der Wasserdruck, den das Gas zu überwinden hat, darf bestenfalls nicht mehr als 3 bis 4 mm betragen. Durch das Niveaurohr *d* mit einem inneren Diameter von etwa 2 mm wird die Wasserschicht konstant gehalten, indem man mittels einer Pipette Wasser zuführt. Durch Senken des Gummischlauches läuft das überschüssige Wasser wieder aus. Das entweichende Gas wird am Rohre *a* verbrannt. Das kleine Loch *c* liefert genügend Gas für den Brenner, wenn der Gasdruck so absinkt, daß nichts durch das Wasser entweicht.

Der Bunsenbrenner wird schließlich ein für allemal durch eine Schraubenvorrichtung für die gewünschte Temperatur eingestellt. Später braucht man nur für ein konstantes Wasserniveau zu sorgen.

Der Kochkolben wird auf das Drahtnetz eines Dreifußes gestellt. Baboblech ist nicht zu empfehlen, ebensowenig Kochen über freier Flamme. In diesem Falle ist der Anfang des Kochens nicht so scharf markiert. Der Dreifuß darf nur einem Diameter von ca. 10 cm besitzen, sonst sinkt das Drahtnetz nach und nach in der Mitte ab, wodurch die Wärmezufuhr größer wird. Ein weitmaschiges Drahtnetz ist vorteilhaft, sonst werden die Maschen nach und nach durch Oxydation des Metalles und Anhaften von Ruß so verkleinert, daß die Wärmezufuhr zum Kochkolben ungenügend wird, wenn der Regulator wie ursprünglich eingestellt ist. Schließlich ist daran zu erinnern, daß der Kochkolben erst dann auf das Drahtnetz gestellt werden soll, wenn derselbe von dem Bunsenbrenner durchgewärmt worden ist, was etwa 15 bis 20 Sekunden erfordert. Hierauf braucht man doch nur dann Rücksicht zu nehmen, wenn die Regulatorvorrichtung eingestellt werden soll. Bei Verwendung von Baboblech dauert es viel länger, bis die Temperatur konstant geworden ist. Der Bunsenbrenner ist mit Schornstein und Kappe versehen (letztere zur Verhütung von Verunreinigungen). Wird den erwähnten Verhältnissen Rück-

sicht getragen, so fungiert der Regulator immer tadellos[1]), wodurch jede Schwierigkeit betreffs des Erhitzens völlig ausgeschaltet ist.

Außer der Intensität des Kochens ist die Kochzeit von großer Bedeutung. Der Vorschrift nach soll die Flüssigkeit genau 2 Minuten im Kochen gehalten werden. Nun ist es sehr einfach, mittels der Kontrolluhr zu entscheiden, wann die zwei Minuten zu Ende gegangen sind. Etwas schwieriger ist der Anfang des Kochens zu bestimmen. Gewöhnlich fängt das Kochen momentan an, bisweilen aber treten erst einzelne Dampfblasen auf; später fängt ein lebhaftes Sieden an. Von diesem Momente an wird das Kochen gerechnet. Unter diesen Umständen verdient die Frage Erwägung, inwieweit man nicht besser die ganze Zeit schon von dem Momente an rechnen soll, wo der Kolben auf das Drahtnetz gestellt wird. $3^1/_2$ ($1^1/_2 + 2$) Minuten später ist dann die Reaktion beendet. Der Regulator trägt dafür Sorge, daß die Zeit bis zum Kochen konstant ist. Nach der alten Vorschrift wird nur die eigentliche Kochzeit (2 Minuten) markiert. Nach meiner Erfahrung ist aber die alte Vorschrift die bessere. Zwar fällt jede Schwierigkeit betreffs des Anfangs des Kochens weg, wenn man nur den Anfang des Erhitzens notiert. Weiter kommt dann eine eventuelle Siedepunktverzögerung nicht in Betracht (doch spielt eine solche hier nur eine ganz untergeordnete Rolle wegen des reichlichen Kohlensäuregehalts der Lösung). Auf der anderen Seite ist die Zeit bis zum Anfang des Kochens keine absolut konstante bei Verwendung von verschiedenen Kochkolben. Diese sind nämlich nicht ganz gleichmäßig im Gusse und leiten also die Wärme nicht vollkommen gleichmäßig. Die dadurch bedingte Differenz bedeutet nach meiner Erfahrung mehr als die Vorteile gegenüber Siedepunktverzögerung usw. Schließlich bedeutet eine Differenz von 5 Sekunden von der richtigen Kochzeit nur einen Fehler von 0,01 mg Zucker, und eine größere Differenz als 2 bis 3 Sekunden riskiert man nach einiger Übung sicher nicht.

Die Luftoxydation des Kupferoxyduls bildet die unzweifelhaft wichtigste Fehlerquelle bei dem Verfahren, deren Verhütung besondere Maßregeln bei der Abkühlung des Kolbens

---

[1]) Siehe doch die folgende Mitteilung.

nach dem Kochen und während der Titration erfordern. Hierzu ist eine recht komplizierte Apparatur, die viel Platz beansprucht, notwendig. Wichtiger aber ist der Umstand, daß man trotz CO_2-Zufuhr zu niedrige Werte bekommen kann, wenn die CO_2-Zufuhr nicht intensiv ist, wenn man langsam titriert und wenn der Kolben während der Titration unvorsichtig geschüttelt wird. Um diese Fehlerquelle zu überwinden, ist vorsichtige Arbeit und auch etwas Übung notwendig. Hier liegt der schwache Punkt der Methode, wo Verbesserungen wünschenswert sind.

Nach vielen vergeblichen Versuchen ist es mir auch gelungen, eine wesentliche Verbesserung ausfindig zu machen, wodurch das Verfahren zur selben Zeit einfacher und zudem vielleicht genauer geworden ist.

Das neue Verfahren besteht darin, daß die Reduktionsflüssigkeit außer den früheren Salzen mit Kaliumjodat versetzt ist. Wenn die 2 Minuten Kochzeit vergangen sind, setzt man zu der heißen Lösung einfach 2 ccm 20% Schwefelsäure (Vol.-Proz.) hinzu. In der sauer gewordenen Flüssigkeit oxydiert die Jodsäure das Kupferoxydul momentan in Kupferoxyd. Die übriggebliebene Jodsäure wird dann schließlich nach Zusatz von Jodkalium titrimetrisch durch Thiosulfat bestimmt. Die Vorteile dieser Veränderung sind einleuchtend. Die Oxydation des Kupferoxyduls geht so schnell von statten, daß eine Luftoxydation nicht in Frage kommen kann, und um so weniger, da der Zusatz von Schwefelsäure eine reichliche CO_2-Entwicklung bedingt. Und die übriggebliebene Jodsäure wird nicht weiter verändert. Es ist also gleichgültig, ob man gleich nachher oder 24 Stunden später die Schlußtitration ausführt. Weiter kann man selbstverständlich die Titration mit Thiosulfat beliebig langsam oder schnell ausführen. Der Umschlag ist hier von blau in farblos und folglich feiner als früher. Schließlich ist die $^n/_{100}$- bis $^n/_{200}$-Thiosulfatlösung mehrere Monate unverändert haltbar, wenn meine Vorschriften befolgt werden, während man früher die $^n/_{100}$- bis $^n/_{200}$-Jodlösung immer frisch darstellen mußte. Hierzu kommt der Umstand, daß dieselbe Thiosulfatlösung sowohl für die Zuckerbestimmung wie für die Mikro-Kjeldahlmethode zur Bestimmung des Reststickstoffes verwendet wird, was nur einen Vorteil bedeuten kann.

Was man a priori gegen das Verfahren einwenden kann,

ist die Tatsache, daß Jodkalium von Kupfersulfat in saurer Lösung unter Bildung von Kupferoxydul bis Jod oxydiert wird. Diese Reaktion kommt aber hier bei der äußerst geringen Konzentration des Kupfers (etwa 1:40000) überhaupt nicht in Betracht. Erst nach 15 bis 30 Minuten bemerkt man eine schwache Blaufärbung, die doch durch Zusatz von 0,03 bis 0,05 ccm $^n/_{100}$-Thiosulfatlösung wieder verschwindet.

Dagegen ist das alte Verfahren in der Beziehung einfacher, da nur eine Titrierflüssigkeit — die Jodlösung — verwendet wird. Der Jodverbrauch ist der Zuckermenge proportional. Bei dem neuen Verfahren hat man eine genau abgemessene Menge von Jodat zuzusetzen. Die verbrauchte Jodatmenge wird nach der Differenz nach Titration mit Thiosulfat berechnet. Die zwei Titrierflüssigkeiten führen eine Verdoppelung des Titrationsfehlers mit. Dieser Fehler bedeutet doch recht wenig, wie die Mikro-Kjeldahlmethode lehrt, wo man ebenfalls die Werte aus der Differenz zwischen der zugesetzten Säure und der verbrauchten Thiosulfatlösung findet.

Tatsächlich bekommt man mit dem neuen Verfahren ebenso gute Resultate wie nach dem alten, wie Belege zeigen können (siehe unten). Dies trifft doch nur zu, wenn einige bestimmte Vorschriften befolgt werden. Diese Vorschriften bieten doch keine Schwierigkeit. Sie umfassen teils die Bereitung der Lösungen, teils die Ausführung der Titration.

Betreffs der Bereitung der Lösungen bestehen diese 1. aus der Salzlösung zur Extraktion des Zuckers aus dem Papier. Diese Salzlösung ist unverändert wie vorher, doch mit der Ausnahme, daß das Kupfersulfat in derselben gelöst ist. 500 mg $CuSO_4 5H_2O$ zu 2 l Salzlösung (1360 ccm gesättigte KCl-Lösung, 1,5 ccm 25 % HCl und 3 g Uranylacetat in ca. 200 ccm Wasser gelöst. Nach Mischung wird mit dest. Wasser auf 2 l ergänzt. Das Uranylacetat — vielleicht ist Uranylchlorid vorzuziehen — löst sich nicht in der gesättigten KCl-Lösung, sondern muß unbedingt für sich zuerst in Wasser allein gelöst werden). 2. 0,2230 g reines Kaliumjodat (KJO_3) 80 g Kaliumbicarbonat und 50 g Kaliumcarbonat werden in einem 1 l-Meßkolben in Wasser gelöst. Nach Ergänzung auf 1 l wird die Flüssigkeit filtriert. 2 ccm dieser ($^n/_{160}$-)Lösung entsprechen 1,25 ccm $^n/_{100}$-Jodat, welche Menge für die meisten in Frage

kommenden Zuckerquantitäten genügt (ca. 0,5 mg Zucker). (Nur bei Koma kommt im Blute mehr Zucker vor. Für diese Ausnahme benutzt man nur 50 mg Blut, oder vielleicht besser, die Hälfte der Salzlösung nach der Extraktion des Blutes). Wie ersichtlich, hat man aus der „Kupferstammlösung" hier das Kupfer entfernt und in die Salzlösung übergeführt. Die Ursache hierfür ist, daß der Titer des Jodates bei Gegenwart von Kupfer bald verändert wird. Nach und nach entsteht ein recht reichlicher grüner Niederschlag (von Kupferjodidjodur?). Die oben angegebene alkalische Jodatlösung ohne Kupfer ist dagegen recht haltbar.

Man kann auch die alten Lösungen unverändert beibehalten und das Jodat für sich allein zusetzen, 0,2 ccm $^{n}/_{16}$- oder 2,0 ccm $^{n}/_{160}$-Jodat.

3. Die $^{n}/_{100}$- oder $^{n}/_{200}$-Thiosulfatlösung wird durch Auflösen der berechneten Menge Natriumthiosulfat in kohlensäurefreiem Wasser bereitet. In einer schwarzen Flasche mit Natronkalkrohr aufbewahrt, ist sie Monate hindurch unverändert haltbar. Die Bürette (eine 2 ccm Bürette in $^{1}/_{50}$ geteilt) wird am besten direkt auf der Flasche montiert. 4. Als Indicator dient eine 1 $^{0}/_{0}$ige Stärkelösung. Wird die lösliche Stärke (1 g) in 2 $^{0}/_{0}$ KCl-Lösung gelöst, so ist dieselbe lange Zeit unverändert haltbar. 5. Eine 5 $^{0}/_{0}$ige Jodkaliumlösung.

Die Ausführung der Titration. Das mit Blut getränkte Papier wird nach Wägung in einem Proberöhrchen mit 6,5 ccm Salzlösung extrahiert. Nach dem Stehen während einer halben Stunde gießt man die Flüssigkeit in einen 50 ccm Jenenser Stehkolben über und spült mit 6,5 ccm Salzlösung nach. Genau 2 ccm alkalische Jodatlösung werden mit einer Vollpipette abgemessen und zur Salzlösung gefügt. Der Kolben wird auf dem Drahtnetz erhitzt. Wenn 15 bis 30 Sekunden an der 2 Minuten-Kochzeit noch fehlen, pipettiert man 2 ccm 20 $^{0}/_{0}$ige Schwefelsäure (Vol.-Proz.) ab, führt die Spitze der Pipette in den Kolbenhals und läßt die Säure rasch längs dem Glase auslaufen, wenn die 2 Minuten vergangen sind. Mit der linken Hand entfernt man zur selben Zeit den Bunsenbrenner[1]). Eine reichliche Kohlensäureentwicklung fängt an, was den Zutritt von Luft verhindert. Man nimmt den Kolben von dem Drahtnetz weg und läßt ihn auf dem Tische erkalten. Doch kann

[1]) Setzt man das Kochen fort, bekommt man unrichtige Werte.

man schon nach 5 Minuten den Kolben unter dem Wasserhahn abkühlen. Die Oxydation des Kupferoxydules geht sehr rasch. Schon nach 5 bis 10 Sekunden ist die Oxydation vollständig oder bei Gegenwart von viel Kupferoxydul größtenteils beendet, wie die Belege zeigen:

Versuch 1. 0,312 mg Zucker jedesmal verwendet. a) 30 Sek. nach dem Kochen wurde der Kolben umgeschüttelt und abgekühlt. 0,270 mg Zucker oder 86 % gefunden. b) Nach dem Stehen während 60 Sekunden gefunden 0,295 mg. c) Nach dem Stehen während 5 Minuten gefunden 0,300 mg.

Versuch 2. 0,4 mg Zucker jedesmal verwendet. a) 10 Sekunden nach dem Kochen wurde der Kolben geschüttelt und abgekühlt. Gefunden 0,347 mg oder 87 %. b) Nach dem Stehen während 30 Sekunden gefunden 0,365 mg. c) Nach 60 Sekunden gefunden 0,375 mg und 0,38 mg und d) nach 4 Minuten gefunden 0,400 mg.

Bei Verwendung von geringeren Zuckermengen wie 0,1 mg ist die Oxydation im Laufe von 10 bis 15 Sekunden beendet. Setzt man aber die Schwefelsäure zu der kalten, vor Luft geschützten Flüssigkeit, geht die Oxydation durch Jodat viel langsamer vor sich. Solange die Reaktion noch alkalisch ist, hat das Jodat selbstverständlich gar keine Wirkung.

Nach dem Stehen während mindestens 5 Minuten (oder auch 24 Stunden) kann also die Titration folgen, indem die überschüssige Jodsäure nach Zusatz von Jodkalium eine äquivalente Jodmenge bildet. $KJO_3 + 5KJ + 3H_2SO_4 = 6J + 3K_2SO_4 + 3H_2O$. Ursprünglich wurden 1,25 ccm $^n/_{100}$-Kaliumjodat (= 2,00 ccm $^n/_{160}$-Jodatlösung) zugesetzt, was 1,25 ccm $^n/_{100}$-Jodlösung entspricht. Durch Subtraktion der verbrauchten Quantität $^n/_{200}$-Thiosulfatlösung von der zugesetzten Jodatmenge findet man die für die Oxydation des Kupferoxyduls verwendete Jodmenge. Diese entspricht genau der Quantität Jod, die man bei der direkten jodometrischen Titration nach der alten Methode findet. Hier entsprechen z. B. 0,54 ccm $^n/_{200}$-Jodlösung 0,10 mg Zucker. Nach dem neuen Verfahren erfordert dieselbe Zuckermenge 1,96 ccm $^n/_{200}$-Thiosulfatlösung (2,50 — 1,96 = 0,54).

Da aber das Kupfersulfat ebenfalls aus Jodkalium Jod freimacht, verdünnt man am besten vor dem Zusatz des Jod-

kaliums die Flüssigkeit mit etwa 25 bis 30 ccm Wasser und setzt dann zwei Tropfen einer 5%igen Jodkaliumlösung hinzu. Unter diesen Umständen ist die Kupferwirkung belanglos. Ohne Zusatz von Jodat kann man erst nach dem Stehen während einer halben Stunde oder mehr (je nach der Temperatur) eine schwache Blaufärbung von Jodstärke beobachten.

Unmittelbar nach dem Zusatz des Jodkaliums folgt die Titration mit Thiosulfat.

Die Versuche mit reinen Zuckerlösungen haben durchaus befriedigende Ergebnisse geliefert, wie die Tabelle I zeigt.

Tabelle I.

Zuckermenge berechnet:	Gefunden:				
0,10 mg	0,10 mg	0,10 mg	0,10 mg	0,105 mg	
0,20 „	0,200 „	0,19 „	0,20 „	0,20 „	
0,235 „	0,230 „	0,235 „	0,235 „	0,230 „	
0,30 „	0,30 „	0,315 „	0,310 „	0,305 „	0,310 mg
0,40 „	0,405 „	0,405 „	0,395 „		
0,50 „	0,505 „	0,505 „	0,505 „	0,50 „	0,51 „

Eine für das Verfahren prinzipiell wichtige Frage ist die Entscheidung, inwieweit andere im Blute befindliche Stoffe von der Jodsäure oxydiert werden. Trifft diese Eventualität zu, ist die ganze Methode unbrauchbar. Glücklicherweise ist dies nicht der Fall. (Dagegen ist die Verwendung von Chromsäure statt Jodsäure aus diesem Grunde ausgeschlossen.) Diese Tatsache ist durch zahlreiche vergleichende Analysen nach dem alten und dem neuen Verfahren sichergestellt worden, wie die folgenden Belege beweisen können: a) = alte Methode, b) = neues Verfahren.

Tabelle II.

		%	%	%	%
Kaninchenblut Nr. 1	a)	0,127	0,138	0,131	= 0,132
	b)	0,142	0,143	0,124	= 0,136
„ „ 2	a)	0,125	0,125	0,139	= 0,130
	b)	0,136	0,136	0,137	= 0,136
„ „ 3	a)	0,100	0,100	0,105	= 0,102
	b)	0,107	0,103	0,115	= 0,108
„ „ 4	a)	0,123	0,125	0,133	= 0,127
	b)	0,120	0,121	0,127	= 0,123

Tabelle II (Fortsetzung).

			%	%	%	%
Kaninchenblut	Nr. 5	a)	0,120	0,132		= 0,126
		b)	0,136	0,137		= 0,136
Hundeblut	Nr. 1	a)	0,116			= 0,116
		b)	0,113			= 0,113
"	" 2	a)	0,093			= 0,093
		b)	0,105	0,105		= 0,105
"	" 3	a)	0,119	0,117	0,119	= 0,118
		b)	0,127	0,133		= 0,130
"	" 4	a)	0,116	0,118	0,111	= 0,115
		b)	0,120	0,125	0,112	= 0,119
Menschenblut	Nr. 1	a)	0,102	0,106		= 0,104
		b)	0,113	0,109	0,105	= 0,109
"	" 2	a)	0,118	0,130	0,127	= 0,125
		b)	0,124	0,127	0,138	= 0,133
"	" 3	a)	0,136	0,138	0,143	= 0,139
		b)	0,133	0,140		= 0,137
"	" 4	a)	0,125	0,102		= 0,114
		b)	0,118	0,118		= 0,118
"	" 5	a)	0,142	0,144		= 0,143
		b)	0,120	0,123	0,125	= 0,123
"	" 6	a)	0,173	0,178		= 0,176
		b)	0,163	0,168		= 0,166
"	" 7	a)	0,148	0,108	0,105	= 0,120
		b)	0,123	0,108	0,107	= 0,113
"	" 8	a)	0,134	0,128	0,134	= 0,132
		b)	0,134	0,135	0,122	= 0,130
"	" 9	a)	0,109	0,125	0,123	= 0,119
		b)	0,116	0,121	0,145	= 0,127
"	" 10	a)	0,120	0,119	0,110	= 0,116
		b)	0,119	0,110	0,110	= 0,113
"	" 11	a)	0,230			= 0,230
		b)	0,233	0,246		= 0,239

Die Übereinstimmung ist, wie ersichtlich, gut, indem der Unterschied zwischen den Durchschnittswerten nach der alten und neuen Methode nicht 0,01 mg Zucker übersteigt. Das neue Verfahren ist also auch zur Blutzuckerbestimmung geeignet.

Über die Mikrobestimmung des Reststickstoffes.

Von

Ivar Bang.

(Eingegangen am 22. September 1917.)

In meinen „Mikromethoden zur Bestimmung einiger Blutbestandteile“[1]) ist auch ein Verfahren zur Bestimmung des Reststickstoffes und des Harnstoffes im Blute mitgeteilt. Die Differenz zwischen beiden bildet der Aminosäure-N. Das Verfahren besteht darin, daß das blutgetränkte Papier teils mit einer sauren Phosphormolybdänlösung (0,5 % Phosphormolybdänsäure + 1,5 % Schwefelsäure), teils mit Ätheralkohol (50 % abs. Alkohol und 50 % abs. Äther) extrahiert wird. Die Extrakte werden in kleinen Kjeldahlkolben (50 ccm Kolben mit langem Hals und flachem Boden) mit 1 ccm Schwefelsäure nach Zusatz von K_2SO_4 und $CuSO_4$ verbrannt und der Stickstoff mittels einer besonderen Mikro-Kjeldahlmethode jodometrisch bestimmt, wozu eine $^n/_{100}$- bis $^n/_{200}$-Thiosulfatlösung erforderlich ist.

Nachdem dasselbe Verfahren — Titration mit Thiosulfatlösung — ebenfalls für die Blutzuckerbestimmung eingeführt worden war, lag es nahe, nachzusehen, inwieweit eine noch größere Übereinstimmung der Methoden erzielt werden konnte, und zwar dadurch, daß dieselbe Salzlösung zur Extraktion des Zuckers und des Stickstoffes benutzt wurde. Da die Molybdänlösung nicht für die Zuckerbestimmung paßt, war die Aufgabe zu erforschen, inwieweit die Uran-Salzmischung für Bestimmung des RNs (mit RN ist Reststickstoff zu verstehen) brauch-

[1]) Bergmanns Verlag, Wiesbaden 1916.

bar ist. Nun enthält aber diese Lösung 20 % KCl und das für die Analyse gebräuchliche Volum (13 ccm) folglich 2,6 g. Bei der Verbrennung wird aber nicht weniger als 0,9 ccm Schwefelsäure davon unter Bildung von Kaliumsulfat verbraucht. Es wird deswegen notwendig sein, entweder eine größere Menge Schwefelsäure zu nehmen oder den Salzgehalt der Lösung zu beschränken oder das Kaliumchlorid mit Kaliumsulfat zu ersetzen. Der letzte Ausweg ist unbrauchbar, da die Zuckerbestimmung bei Gegenwart von K_2SO_4 sehr schlechte Werte gibt (0,1 mg Zucker zugesetzt, 0,05 mg gefunden, 0,2 mg Zucker = 0,145 mg). Eine Verminderung der Salzkonzentration bis 5 % KCl bedingt ebenfalls unrichtige Werte (0,1 mg Zucker = 0,08 mg; 0,2 mg = 0,175 mg). Hierzu kommt, daß das Eiweiß unter diesen Umständen schlecht am Papier haftet. Dagegen läßt sich die Salzkonzentration ohne Schaden bis 16 % KCl vermindern (0,1 mg Zucker = 0,09 mg; 0,2 mg = 0,205 mg). Werden nur 6,5 ccm von dieser Lösung zur Extraktion des Papiers verwendet, indem man mit Wasser allein nachspült, kommt nur 1 g KCl vor, welche Menge 0,4 ccm konz. Schwefelsäure verbraucht. Mit dieser Zusammensetzung ist also die Salzlösung sowohl für Zucker- als RN-Bestimmung brauchbar.

Es fragt sich aber noch, inwieweit diese Salzlösung betreffs Extraktion dasselbe leistet wie die Molybdänlösung. Die folgenden vergleichenden Untersuchungen können darüber entscheiden.

Versuch Nr. 1. Hundeblut. a) Extraktion mit Molybdänlösung. Gefunden: 0,38 %, 0,38 %, 0,37 %, 0,39 % = **0,38 %**. b) Extraktion mit der Uranlösung. Gefunden: 0,31 %, 0,31 %, 0,32 %, 0,32 %, 0,32 %, 0,34 %, 0,34 % = **0,322 %**.

Versuch Nr. 2. Hundeblut. a) Extraktion mit Molybdänlösung. Gefunden: 0,30 %, 0,27 % = **0,285 %**. b) Extraktion mit Uranlösung. Gefunden: 0,28 %, 0,30 %, 0,31 %, 0,34 % = **0,31 %**.

Versuch Nr. 3. Hundeblut. a) Extraktion mit Molybdänlösung. Gefunden: 0,30 %, 0,31 %, 0,31 %, 0,32 % = **0,31 %**. b) Extraktion mit Uranlösung. Gefunden: 0,30 %, 0,30 % = **0,30 %**.

Versuch Nr. 4. Kaninchenblut. a) Extraktion mit Molybdänlösung. Gefunden: 0,58 %, 0,58 %, 0,61 %, 0,61 % = **0,595 %**. b) Extraktion mit Uranlösung. Gefunden: 0,52 %, 0,54 %, 0,54 %, 0,55 % = **0,54 %**.

Wie ersichtlich, bekommt man bisweilen identische Werte mit beiden Extraktionsmitteln. Bisweilen extrahiert aber die Uranlösung etwas weniger als die Molybdänlösung. Wodurch der Unterschied bedingt ist, entzieht sich der Entscheidung. Möglicherweise kommen einfache Peptide bisweilen vor, die von der Uranlösung allein niedergeschlagen werden. Die gewöhnlichen Eiweißkörper des Blutes werden von beiden Lösungsmitteln quantitativ zurückgehalten.

Wenn die Uranlösung nach dem Angeführten sich als brauchbar erwiesen hat, fragt es sich, inwieweit dieselbe zum Ersatz der Molybdänlösung vorgeschlagen werden soll. Der Vorteil besteht darin, daß man nur eine gemeinsame Extraktionsflüssigkeit braucht. Auf der anderen Seite besitzt die Uranlösung die Unannehmlichkeit, daß oft die Flüssigkeit bei der Verbrennung stößt, bevor alles Wasser verdampft ist. Bei vorsichtiger Erhitzung hat dies doch wenig zu sagen. Weiter hat es sich aber erwiesen, daß die Verbrennung des molybdänsauren Extraktes ebenso gut und rasch geht, selbst wenn kein Kaliumsulfat und kein Kupfersulfat zugesetzt wird. Die Molybdänsäure ist selbst ein vorzüglicher Katalysator bei der Verbrennung. Das Kochen geht auch ruhig ohne Stoßen vor sich. Die Verwendung der Molybdänlösung ist unbedingt angenehmer. Auch haftet das Eiweiß hier ebenso gut am Papier wie bei Verwendung von Uranlösung. Besonders trifft dies zu, wenn man möglichst enge Proberöhrchen und 10 ccm Molybdänlösung verwendet. Eine Filtration ist dann überflüssig. Ich gebe persönlich der Molybdänlösung den Vorzug. Doch ist selbstverständlich auch die Uranlösung (mit 16 % KCl) durchaus brauchbar.

Dagegen möchte ich in einer anderen Beziehung eine Veränderung empfehlen. Nach der bisherigen Vorschrift wird der Aminosäurestickstoff[1]) aus der Differenz zwischen dem

---

[1]) Unter Aminosäurestickstoff wird die ganze Fraktion verstanden, die aus Aminosäure, Harnsäure, Kreatinin, Hippursäure usw. besteht.

totalen RN und dem Harnstoff-N gefunden. Diese indirekte Bestimmung ist mit den Versuchsfehlern der beiden Bestimmungen behaftet. Der Versuchsfehler ist zwar an sich sehr gering — etwa 0,002 bis 0,004 mg N. Da der Aminosäuregehalt aber normal nur etwa 12 bis 15 mg N in 100 g Blut beträgt, können bisweilen Fehler bis beinahe 30 % entstehen. Zwar kann man durch Ausführung von Doppelanalysen den Fehler wesentlich vermindern, nichtsdestoweniger sind Verbesserungen hier wünschenswert. Eine wesentliche Verbesserung kann auch dadurch eingeführt werden, daß man die Aminosäurefraktion direkt bestimmt. Dies läßt sich in der Weise arrangieren, daß man aus dem bluthaltigen Papier erst den Harnstoff extrahiert und nachher mittels Molybdänlösung die übrigen Extraktivstoffe herauslöst. Wie die folgenden Versuche lehren, erzielt man in dieser Weise vorzügliche Resultate.

Tabelle I.

	a) Harnstoff-N	b) Aminosäure-N	Totaler Rest-N c) aus a u. b berechnet	Totaler Rest-N d) direkt gefunden
Versuch Nr. 1:	17	15	32	28
	16	16	32	30
	17	16	33	31
	14	18	32	34
Versuch Nr. 2:	16	17	33	30
	15	15	30	31
	16	16	32	31
	17	14	31	32

Die Versuche sind mit Hundeblut angestellt. Im Versuch Nr. 1 wurde die Uransalzmethode, im Versuch Nr. 2 die Molybdänmethode verwendet. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß das Papier erst während 5 Stunden mit Ätheralkohol extrahiert wurde; nachher verweilte das Papier in der Salzlösung etwa 1 Stunde. Außer dem Vorteil der direkten Aminosäurebestimmung braucht man nur eine Blutprobe für die Bestimmung sowohl von Harnstoff wie von der Aminosäurefraktion. Diese kleine Änderung dürfte infolgedessen empfehlenswert sein.

In vielen Fällen, besonders bei der Untersuchung der RN-Retention bei Nephritis genügt nur ein einziger Wert. Inwieweit man hier den totalen RN oder nur die Harnstofffraktion bestimmen soll, ist recht gleichgültig, da eine eventuelle Steigerung so gut wie ausschließlich der Harnstofffraktion zukommt. Da indessen die Bestimmung des RNs schneller geht (besonders wenn man den überflüssigen Zusatz von K_2SO_4 und $CuSO_4$ unterläßt), dürfte diese Methode für die Klinik vorzugsweise empfohlen werden.

Ergänzende Bemerkungen über die Mikrobestimmung des Traubenzuckers.

Von

Ivar Bang und **R. Hatlehoel** (aus Christiania).

(Eingegangen am 8. November 1917.)

Mit 2 Figuren im Text.

Die Mikromethode zur Zuckerbestimmung besitzt in ihrer gegenwärtigen Form zwei Fehlerquellen, die eine besondere Vorsicht bei der Ausführung bedingen: 1. die Luftoxydation und 2. die Intensität des Kochens. In der vorhergehenden Abhandlung hat der eine von uns Maßregeln angegeben, durch die beide Fehlerquellen ausgeschaltet werden. Betreffs der zweiten Fehlerquelle, der Intensität des Kochens, wurde eine Regulationsvorrichtung für den Gasdruck empfohlen. Dieser Regulator hatte schon etwa ein Jahr zufriedenstellend gewirkt, bis schließlich die steigende Verschlechterung des Gases (ungleichmäßige Mischung mit Holzgas) die ganze Einrichtung illusorisch machte. Um nicht mit Zuckerbestimmungen gänzlich aufhören zu müssen, wurde das Problem weiter bearbeitet, bis es schließlich gelang, die ganze Fehlerquelle endgültig zu überwinden.

In Übereinstimmung mit Ege[1]) versuchten wir zuerst die Zeit des Kochens zu verlängern in der Hoffnung, daß Unregelmäßigkeiten hierdurch ausgeglichen werden könnten. Indessen waren die Ergebnisse nicht zufriedenstellend, wie die folgende Versuchsserie erweist.

0,20 mg Zucker überall verwendet. Kochzeit 1 Minute = 0,11 mg Zucker gefunden. 2′ = 0,215 mg, 3′ = 0,29 mg,

---

[1]) Ege, Ugeskrift for læger Nr. 4, 1917.

4' = 0,34 mg, 5' = 0,38 mg und 6' = 0,40 mg. Bei den letzten Versuchen war die Lösung zu einem Salzbrei eingekocht. Diese Schwierigkeit läßt sich nach Ege durch Zusatz von 5 ccm Wasser zur Ursprungslösung beseitigen. Es bleibt aber die Unannehmlichkeit, daß das Verfahren eine lange Dauer erfordert. Hierzu kommt, daß nach Ege selbst bei einer Kochzeit von 7 Minuten die Intensität des Kochens sich geltend macht. —

Stellt man sich die Frage, warum diese wechselnde Stärke des Kochens so große Bedeutung besitzt, so ist es klar, daß die Temperatur der alkalischen Salzlösung hierdurch nicht direkt verändert werden kann. Die 20%ige KCl-Lösung kocht bei etwa 102°, gleichgültig, ob man eine größere oder geringere Flamme verwendet. Dagegen verdampft im ersten Falle mehr Wasser als im letzten. Die Folge davon wird, daß die Salzlösung konzentrischer wird, und dadurch steigt die Temperatur. Ebenfalls steigt die Alkalescenz der Lösung. Beide Faktoren bedingen eine stärkere Reduktionswirkung des Zuckers. Wenn man also dafür Sorge tragen könnte, daß das Volum der Flüssigkeit während des Kochens unverändert bleibt, oder jedenfalls nicht vermindert würde, wäre anscheinend eine variable Intensität des Kochens von viel geringerer Wirkung. Diese Forderung läßt sich am besten dadurch erzielen, daß man wie bei der Mikro-Kjeldahlmethode nach Bang eine indirekte Erhitzung durch kochenden Wasserdampf einführt. Hierdurch wird die alkalische Salzlösung bis zum Kochpunkt erhitzt und nach und nach, wenn die Menge des Kondensationswassers steigt, sinkt die Siedetemperatur herab, während die Alkalescenz vermindert wird. Schließlich braucht man keine Siedepunktsverzögerung oder Einflüsse von den Ungleichmäßigkeiten des Glases zu befürchten. Man hat nur die Zeit zu registrieren, wenn der Wasserdampf in den Kolben eingeleitet wird. Nach beendigter Erhitzung werden 2 ccm 20%iger Schwefelsäure zugesetzt und der Jodatverbrauch durch Titration mit $^{n}/_{200}$-Thiosulfatlösung bestimmt (siehe vorhergehende Mitteilung).

Dank dieser Versuchsanordnung zeigte es sich, daß man recht gute und übereinstimmende Werte erzielte, selbst wenn die Wasserdampfmenge recht beträchtlich schwankte. Dieses wurde dadurch erreicht, daß der Kochkolben mehr oder weniger

stark erhitzt wurde. Der entwickelte Wasserdampf wurde in den Kolben mit Zucker- und alkalischer Salzlösung eingeleitet (siehe Fig. 2, S. 271). So wurden bei Verwendung von 0,20 mg Zucker bei starker Erhitzung während 5 Minuten 1,39 ccm und 1,39 ccm Thiosulfatlösung verbraucht. Durch sehr starke Erhitzung 1,41 ccm und 1,42 ccm. Durch mäßig starke (gewöhnliche) Erhitzung 1,40 ccm und 1,38 ccm Thiosulfatlösung. Erst bei Verwendung von sehr schwacher Erhitzung bekamen wir 1,84 ccm und 1,94 ccm Thiosulfatlösung.

Waren auch diese Werte zufriedenstellend, so zeigte es sich doch, daß man durch Verlängerung der Kochzeit eine größere Reduktion erzielte. Mit einer Kochzeit von 6 Minuten 1,30 ccm und 1,26 ccm Thiosulfat, nach 7 Minuten 1,15 ccm und 1,13 ccm, nach 8 Minuten 0,98 ccm und 0,98 ccm und nach 9 Minuten 0,96 ccm und 0,97 ccm Thiosulfatlösung. Erst nach einer Kochzeit von 8 Minuten ist also die Reduktion beendigt. Nun ist aber eine so lange Kochzeit nicht praktisch, und es wurden deswegen Versuche angestellt, um die Reduktionsdauer zu verkürzen. Es war a priori denkbar, daß eine größere Alkalescenz dies bewirken könnte, da die Literatur Angaben aufweist, gemäß denen eine größere Alkalescenz eine stärkere Reduktion bedingt. Unsere Versuche gaben aber gerade das entgegengesetzte Resultat. Außer den 2 ccm der carbonathaltigen Jodatlösung fügten wir in einigen Versuchen noch 2 ccm 10$^0/_0$ige Kalilauge — und außerdem in einigen Versuchen Seignettesalz — hinzu. Bei Verwendung von 0,2 mg Zucker ermittelten wir bei einer Kochzeit von 3 Minuten 2,19 ccm und 2,19 ccm Thiosulfatlösung, nach 4 Minuten 2,18 ccm und 2,20 ccm und nach 5 Minuten 2,19 ccm und 2,19 ccm Thiosulfat. Hieraus ist ersichtlich, erstens daß nur wenig Kupferoxyd reduziert wird (die Quantität entspricht 0,05 mg Zucker) und zweitens, daß die Reduktion schon nach kurzer Zeit vollendet ist. Man kann sich vorstellen, daß hier zwei Prozesse nebeneinander verlaufen. Teils wird der Zucker von dem Kupferoxyd oxydiert, teils aber von der Lauge in der Weise zerstört, daß die Produkte nicht weiter vom Kupferoxyd oxydiert werden können. Unter dieser Annahme dürfte eine Vermehrung des Kupfers eine größere Reduktion bedingen. Dies war auch der Fall. Durch Zusatz von 0,2 ccm 3$^0/_0$iger Kupfer-

sulfatlösung und 2 ccm Kalilauge (nebst 2 ccm Carbonatlösung und 13 ccm Salzlösung) bekamen wir für 0,10 mg Zucker 1,98 ccm Thiosulfat, für 0,2 ccm 1,82 ccm und für 0,3 ccm 1,45 ccm, alles bei einer Kochzeit von 5 Minuten.

Nach diesen Erfahrungen erwuchs die Aufgabe, das gegenseitige Verhältnis zwischen Kupfer und Alkali in der Weise zu regulieren, daß die besten Bedingungen für die Reduktion des Zuckers obwalten. Erstens versuchten wir die Carbonate gegen Kalilauge bis 0,5 % und Seignettesalz auszutauschen. Bei Verwendung von 0,20 mg Zucker bekamen wir mit 2 ccm der alkalischen Jodatlösung so gut wie keine Reduktion. Erst nach Zusatz von K_2CO_3 zu dieser Lösung wurde Reduktionswirkung erzielt: Nach Zusatz von 0,50 ccm 10 %iger K_2CO_3-Lösung wurden 1,62 ccm Thiosulfatlösung verbraucht, nach Zusatz von 1,00 ccm — 1,46 ccm, nach Zusatz von 1,50 ccm — 1,61 ccm und nach Zusatz von 2 ccm — 1,69 ccm, alles bei einer Kochzeit von 3 Minuten und 0,20 mg Zucker. Das Optimum liegt, wie ersichtlich, bei 1,00 ccm 10 %iger K_2CO_3-Lösung zu 2 ccm der alkalischen Jodatlösung.

Was aber wichtiger war: die Reduktionswirkung war **bei Schwankungen der Kochzeit von 2 bis 6 Minuten ganz unverändert.** Gefunden: Kochzeit 1′ = 1,98 ccm, 2′ = 1,60 ccm, 2′ 30″ = 1,58 ccm, 3′ = 1,59 ccm, 4′ = 1,61 ccm, 5′ = 1,60 ccm und 6′ = 1,60 ccm. In diesen Versuchen wurde überall 1,50 ccm Carbonatlösung zugesetzt.

Wie zufriedenstellend auch diese Ergebnisse schienen, so zeigten jedoch weitere Versuche Unterschiede der Reduktionswirkung von verschiedenen Zuckermengen. Bei Verwendung von 0,2 mg Zucker war der Jodverbrauch pro 0,01 mg Zucker gleich 0,021 ccm $^n/_{100}$-Jod, bei Verwendung von 0,4 mg aber 0,025 ccm $^n/_{100}$-Jod. Der Unterschied ist zwar kein großer und bei Verwendung einer empirischen Reduktionstabelle übrigens gleichgültig. Indessen wurde von der Ausarbeitung einer solchen Abstand genommen, da es sich zeigte, daß eine Änderung der Alkalescenz eine ganz regelmäßige Reduktion bedingt. Dazu kam, daß die Reduktion pro 0,01 mg Zucker noch größer war, nämlich 0,028 ccm $^n/_{100}$-Jodlösung (oder 0,056 ccm $^n/_{200}$-Jod). Die Reduktion ist etwa $^3/_2$ größer als nach dem ursprünglichen Verfahren.

Die Zusammensetzung der alkalischen Jodatlösung ist demnach: 75 g K_2CO_3, 20 g Seignettesalz und 0,3567 g KJO_3 (= $^n/_{100}$-Jodat) in Wasser zu 1 l gelöst[1]). Sowohl die Lauge, wie auf der anderen Seite das Bicarbonat sind entfernt. Dagegen erfordert die stärkere Reduktion mehr Jodat als ursprünglich verwendet. Dementsprechend haben wir auch etwas mehr Kupfersulfat zur Salzlösung gesetzt, nämlich 800 mg $CuSO_4 + 5H_2O$ statt früher 500 mg — alles zu 2 l Salzlösung.

Die Ergebnisse, die wir mit dieser Reduktionsflüssigkeit erhielten, sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt (siehe auch Fig. 1, S. 269). Es wurden überall 2 ccm Jodatlösung + 13 ccm Salzlösung verwendet.

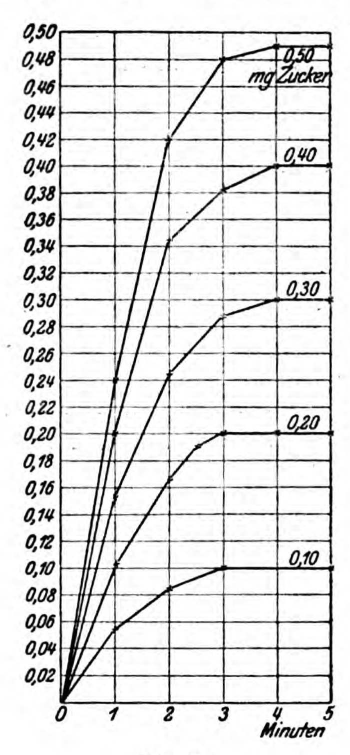
Kochzeit	mg Zucker gefunden für:				
	0,10 mg	0,20 mg	0,30 mg	0,40 mg	0,50 mg
1 Minute	0,054	0,104	0,154	0,200	0,240
2 Minuten	0,086	0,168	0,246	0,346	0,432
$2^1/_2$ „	—	0,189	—	—	—
3 „	0,100	0,200	0,289	0,382	0,482
4 „	0,104	0,200	0,300	0,404	0,490
5 „	0,100	0,200	0,304	0,404	0,490

In drei Blindversuchen wurden gefunden 0,03, 0,03 und 0,05 ccm Jodverbrauch.

Die Berechnung ist sehr einfach (1,97 ÷ a): 2,8 gleich dem gesuchten Wert für Zucker. 1,97 entspricht der vorhandenen 2,00 ccm $^n/_{100}$-Jodlösung (als Jodat), weniger dem Jodverbrauch der Blindanalyse. Dieser Verbrauch an Jod ist für ganz reine Reagenzien berechnet. Der Faktor 2,8 entspricht der Reduktion für 0,01 mg Zucker, die, wie ersichtlich, überall ganz konstant ist.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die hauptsächliche Reduktion im Laufe der zwei ersten Minuten beendigt ist. In der dritten Minute ist die Reduktion nur gering, und nach 3 Minuten ist für die geringeren Zuckerwerte bis zu 0,20 g die Reduktion vollständig. Bei Gegenwart von mehr Zucker findet in der dritten Minute noch eine geringe Reduktion statt. Da aber diese Zuckerwerte nur selten vorkommen dürften,

[1]) Wahrscheinlich kann man die Jodmenge etwas vermindern, z. B. 0,2854 g = $^n/_{125}$. Denn mehr als 0,5 mg Zucker kommt jedenfalls nur sehr selten vor.



Fig, 1.

kann man unzweifelhaft eine Kochzeit von 3 Minuten vorschreiben. Besser ist es jedoch, diese Kochzeit auf 4 Minuten zu verlängern. Unter diesen Umständen ist es gleichgültig, ob man eine Minute mehr oder weniger kocht. Aus diesen Gründen wird empfohlen, immer eine Kochzeit von 4 Minuten zu verwenden.

Nach den obigen Befunden ist es nicht überraschend, daß die Intensität des Kochens recht belanglos geworden ist. Folgende Versuchsserie kann hierüber unterrichten. Überall 0,20 mg Zucker verwendet.

1.	Mit	offenem	Gashahn	ohne	Drahtnetz	gefunden	0,208 mg,
2.	„	„	„	mit	„	„	0,200 „
3.	„	72/90 „	„	„	„	„	0,200 „
4.	„	54/90 „	„	„	„	„	0,200 „
5.	„	36/90 „	„	„	„	„	0,160 „

Von den Extremen ausgenommen, erhält man also mit sehr verschiedener Intensität des Kochens durchaus richtige Werte.

Dank den in den zwei letzten Mitteilungen beschriebenen Modifikationen sind die zwei früheren Fehlerquellen, die dem Verfahren anhafteten, ganz ausgeschaltet worden. Die Methode ist dadurch einfacher und auch genauer geworden. Tatsächlich bildet sie in ihrer jetzigen Form ein Präzisionsverfahren, das kaum hinter den besten Makromethoden zurücksteht. Als Belege für die Genauigkeit des Verfahrens möchten wir schließlich folgende Versuche mitteilen. Sie wurden in der Weise ausgeführt, daß die Zuckerlösungen von dem einen von uns abgemessen und von dem andern bestimmt wurden. Wir bemerken ausdrücklich, daß sämtliche Versuche Aufnahme gefunden haben.

Zucker berechnet mg	Gefunden mg	Differenz mg
0,04	0,043	+ 0,003
0,05	0,047	— 0,003
0,06	0,061	+ 0,001
0,13	0,128	— 0,002
0,14	0,143	+ 0,003
0,15	0,154	+ 0,004
0,16	0,169	+ 0,009
0,17	0,168	— 0,002
0,18	0,182	+ 0,002
0,25	0,243	— 0,007
0,27	0,275	+ 0,005
0,35	0,357	+ 0,007

Die Ergebnisse sind durch Verwendung von $^{n}/_{100}$-Thiosulfatlösung gewonnen. Vielleicht kann man mittels $^{n}/_{200}$-Thiosulfatlösung die Versuchsfehler noch mehr herunterdrücken[1]).

Ausführung. 13 ccm der zuckerhaltigen Salzlösung (nach Extraktion des bluthaltigen Papieres), die auf 2 l 400 g KCl, 3,0 g Uranylacetat, 1,5 ccm 25$^0/_0$ige Salzsäure und 800 mg Kupfersulfat enthält und 2 ccm der Jodatlösung, die auf 1 l

[1]) Daß die Methode sich auch zur Blutzuckerbestimmung bestens bewährt hat, sei hier nur bemerkt.

15 g K_2CO_3, 20 g Seignettesalz und 0,3567 g Kaliumjodat enthält, werden in einen enghalsigen 125 ccm Erlenmeyerkolben eingeführt. Vorher ist der Kochkolben (ein 500 ccm Jena-Stehkolben) $^2/_3$ voll mit destilliertem Wasser und einigen Siedesteinen (lufttrockene Tonsplitter) versetzt und auf dem Drahtnetz mittels eines Bunsenbrenners bis zum Kochen erhitzt. Wenn das Destillationsrohr durchwärmt worden ist (indem das weitere Glasrohr mit dem Quetschhahn geschlossen ist), wird

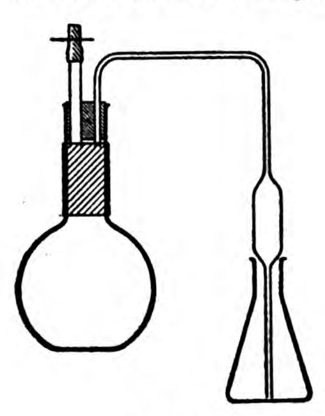


Fig. 2.

der Erlenmeyerkolben untergestellt. Die Spitze des Destillationsrohres soll so tief wie möglich in der Flüssigkeit stehen. Die kugelförmige Erweiterung des Destillationsrohres ist dazu bestimmt, ein Spritzen der Flüssigkeit zu verhindern. (Das Destillationsrohr ist aus einer 20 ccm-Pipette gemacht.) Der Stopfen ist ein Korkstopfen, Gummistopfen darf nicht benutzt werden. Man markiert mittels einer S a n d u h r den Anfang der Erhitzung (eine Sanduhr für 4 Minuten ist besser als die Kontrolluhren, die nach einiger Zeit schlecht fungieren, sie ist dazu viel billiger). Wenn 4 Minuten vergangen sind, läßt man aus einer Pipette 2 ccm $20^0/_0$ige Schwefelsäure in die Flüssigkeit einlaufen und öffnet gleichzeitig das Seitenrohr. Nachher hebt man den Kochkolben und spült mit der Spritzflasche das Destillationsrohr ab. Nach dem Stehen, während 5 Minuten[1]),

[1]) In zwei Versuchen wurde die Flüssigkeit unmittelbar nach der Erhitzung abgekühlt. Statt 0,20 mg Zucker wurden 0,182 mg und 0,180 mg gefunden.

kühlt man den Kolben unter dem Wasserhahn ab, setzt ca. 25 ccm Wasser, 2 Tropfen 10%ige Jodkaliumlösung und 2 bis 3 Tropfen 1%ige Stärkelösung hinzu und titriert, bis Umschlag ins Farblose erfolgt. Nach dem Stehen während einiger Zeit tritt die Blaufärbung wieder ein. Bemerkt man im Laufe der ersten 5 Minuten ein Nachblauen, so muß die Titration fortgesetzt werden. Gewöhnlich genügt jetzt $^1/_2$ bis 1 Tropfen zum Umschlag. Aus der Formel: 1,97 ÷ der verbrauchten Thiosulfatlösung ($^n/_{100}$) durch 2,8 dividiert, wird der Zuckerwert erhalten.

Statt den obigen Lösungen kann man das Jodat — 0,2 ccm $^n/_{100}$-KJO_3 — für sich zusetzen und ebenso 2 Tropfen einer 10%igen $CuSO_4$-Lösung.

Nur absolut reines Kaliumjodat darf verwendet werden. Bisweilen enthält auch das Uranylacetat jodbindende Stoffe und muß dann gereinigt werden, — am besten durch Überführung in Chlorid durch Erhitzen und Eintrocknen mit Salzsäure.

Studien über die Blutgerinnung und über die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Knochenmark sowie Milz und Knochenmark.

Von

Motoi Yamada.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 11. Februar 1918.)

Mit 11 Figuren im Text.

I. Kapitel.

Über die Eigenschaften des Knochenmarkthrombins.

Einleitung.

Die systematische Untersuchung über den feineren Mechanismus des komplizierten Vorganges der Blutgerinnung wurde zuerst von A. Schmidt und seiner Schule im Jahre 1861, unternommen, dann von Arthus (1890), Hammarsten (1890), Pekelharing (1891), Wooldridge (1891), Wright (1893) Fuld und Spiro (1904), L. Loeb (1907), Morawitz (1908), Nolf (1908), Rettger (1909), Howell (1910), Bordet und Delange (1912), Herzfeld und Klinger (1916) usw. Aus der Darstellung der verschiedenen Gerinnungstheorien aller dieser Forscher ergibt sich jedenfalls, daß es in der Lehre über die Blutgerinnung so viele einander widersprechende Angaben und Beobachtungen und so viele unklare Punkte gibt, daß es augenblicklich kaum möglich sein dürfte, eine klare Zusammenfassung der verschiedenen Ansichten zu geben und eine aus ihnen hervorgehende, dieselbe einigermaßen vermittelnde Gerinnungstheorie aufzustellen.

Trotz aller Unklarheit und allen Widersprüchen dürfte es

jedoch sicher sein, daß gewisse Stoffe, wie das Fibrinogen und Thrombin — mag das letztere nun ein Enzym oder eine Kolloidverbindung sein —, an der Fibrinbildung direkt beteiligt sind, während andere nur in indirekter Weise als gerinnungsbefördernde bzw. als gerinnungshemmende Stoffe wirken. Doch gehören zu den heute noch unaufgeklärten Fragen die Thrombinbildung und die Beziehung der Formelemente zu ihr. Ist die Muttersubstanz des Thrombins in dem Plasma des zirkulierenden Blutes enthalten, oder stellt sie einen Stoff dar, der vor der Gerinnung aus den Formelementen austritt, ist eine solche, heute viel umstrittene Frage.

In dieser Hinsicht stehen einander zwei Ansichten gegenüber, nämlich die von A. Schmidt[1]) und die von Pekelharing[2]). Nach A. Schmidt kommt das Prothrombin in dem zirkulierenden Plasma präformiert vor, und es wird von den aus den Formelementen heraustretenden zymoplastischen Substanzen in Thrombin umgewandelt. Pekelharing ist dagegen der Ansicht, daß das Blutplasma keine nennenswerten Mengen Prothrombin enthält. Dieser Stoff tritt nach ihm vor der Gerinnung aus den Formelementen in das Plasma über und wird durch dessen Kalksalze in Thrombin umgewandelt. Arthus und Hammarsten[3]) sind auch der Meinung, daß das Prothrombin gerade von den Zellen geliefert wird und im Plasma auf Kalksalze trifft, die dann die weitere Umwandlung in wirksames Thrombin übernehmen. Derselben Ansicht sind auch Fuld-Spiro[4]) und Morawitz[5]), und diese Forscher stellen folgende Behauptung auf: Zur Entstehung des Thrombins tragen außer den Kalksalzen mindestens auch zwei fermentähnliche Körper bei; — der eine findet sich bereits im zirkulierenden Plasma und entspricht dem Prothrombin Schmidts (Thrombogen nach Nolf und Morawitz), und der andere Körper stammt vornehmlich aus den zelligen Elementen des Blutes. Wahrscheinlich ist er in erster Linie ein Derivat der Blutplättchen, vielleicht auch der Leukocyten. Nolf[6]) bestätigt dies, und gegenwärtig betrachtet man wohl allgemein das Prothrombin, oder wie man es nunmehr auch nennt, das Thrombogen als einen präformierten Bestandteil des Plasmas. Rettger[7]) beobachtet, daß das Prothrombin aus Blutplättchen und Leukocyten gebildet wird.

Im Jahre 1901 hatte Wright[8]) eine ganz besondere Stellung zu

---

[1]) A. Schmidt, Zur Blutlehre, 1892.

[2]) Pekelharing, Beiträge f. Rud. Virchows Festschrift 1, 1891.

[3]) Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. 22, 333, 1896.

[4]) Fuld-Spiro, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 171, 1904.

[5]) Morawitz, Oppenheimers Handbuch d. Biochemie 2, 2, 1908.

[6]) Nolf, Arch. internat. de physiolog. 6, H. I, 1908.

[7]) Rettger, Americ. Journ. of Physiol. 24, 406, 1909.

[8]) Wright, Journ. of Morph. 21, 263, 1901.

dieser Frage eingenommen, indem er nämlich den Megacaryocyten des Knochenmarkes eine Bedeutung als Quelle des Prothrombins zumaß. Dieselbe Betrachtung wurde von Ogata[1]), Bunting[2]), Downey[3]) und Ferrata-Negreiros-Rinaldi[4]) bestätigt. Neuerdings haben auch C. K. Drinker und K. R. Drinker[5]) an Howells Institut nachgewiesen, daß das aus der Tibia gesammelte Knochenmark des lebenden Hundes eine wichtige Quelle des Prothrombins sei. Sie fassen das Ergebnis über ihre Beobachtung dahin zusammen:

1. Fibrinogen wird im Knochenmark nicht gebildet;
2. Prothrombin wird im Knochenmark in großen Mengen gebildet;
3. Prothrombin kommt weder aus Leukocyten, Lymphocyten, Myelocyten, kernhaltigen roten Zellen, noch aus wandernden Endothelzellen hervor;
4. Megacaryocyten würden wahrscheinlich die Quelle des Knochenmarkprothrombins sein.

Die hier zitierten Ansichten sprechen dafür, daß das Prothrombin aus dem Knochenmark stamme, und daß es vom Knochenmark in das kreisende Blut tritt. Deshalb können wir die zwei folgenden Fragen aufwerfen:

1. Ist das Knochenmark wirklich die Quelle des Prothrombins resp. des Thrombins?
2. Ist im Bejahungsfalle das Prothrombin resp. Thrombin im Knochenmark und im Blutserum ganz gleich?

Die Beantwortung dieser Fragen kann etwas Licht auf das heute noch nicht aufgeklärte gerinnungsphysiologische Gebiet werfen. Von dieser Annahme ausgehend, habe ich zunächst die Eigenschaften des Prothrombins, resp. des Thrombins im Knochenmark auf Anregung meines Lehrers, des Herrn Prof. L. Asher, untersucht.

Methodik.

1. Zubereitung des Knochenmarkextraktes. Zur Zubereitung des Knochenmarkextraktes diente uns das Mark des frischen Markknochens (Femur oder Tibia) von einem beliebigen Tier (entweder vom Kalb, vom Rind, vom Pferde, vom Schwein oder vom Kaninchen). Jedoch haben wir, um die Eigenschaft der gerinnungsbefördernden Substanz

[1]) Ogata, Beiträge z. Path. Anat. u. z. allg. Pathol. (Ziegler) 52, 192, 1912.

[2]) Bunting, Journ. of experim. Med. 11, 541, 1909.

[3]) Downey, Fol. Haemat. 15, 25, 1913.

[4]) Ferrata-Negreiros-Rinaldi, Fol. Med. 30 bis 33, 1915.

[5]) C. K. Drinker und K. R. Drinker, Americ. Journ. of Physiol. 41, Nr. 1, 1916.

im Knochenmark eingehend zu studieren, hauptsächlich die frischen Markknochen der Kälber gebraucht, weil wir sie leicht bekommen konnten und sie relativ eine große Menge Knochenmark enthalten. Aus diesen Markknochen muß man das Mark entnehmen und wägen. Das Knochenmark wurde entweder mit Ringerlösung oder mit einer 0,9%igen Kochsalzlösung extrahiert.

a) Der Knochenmark-Ringerextrakt. Die gewogene Markmasse wird mit 2 eventl. 3 bis 8 Volumen Ringerlösung 3 Stunden lang im Zimmer extrahiert, nachher durch Gaze filtriert. Dann, um die im Filtrat enthaltenen zelligen Elemente zu entfernen, wird das Filtrat etwa 30 Minuten lang zentrifugiert, und endlich mit dem Faltenpapier (Nr. 588 Carl Schleicher & Schüll) wieder filtriert. Die auf diese Weise erhaltene rosenrote Flüssigkeit ist der Knochenmark-Ringerextrakt.

b) Der Knochenmark-Kochsalzextrakt: Er unterscheidet sich vom Knochenmark-Ringerextrakt nur dadurch, daß statt der Ringerlösung eine 0,9%ige Kochsalzlösung verwendet wird.

Die in dieser Weise dargestellten Knochenmark-Ringer- und Kochsalzextrakte gaben immer eine deutliche Ninhydrin- und Biuretreaktion und trübten sich beim Zusatz von Sulfosalicylsäurelösung.

2. Zubereitung der Fibrinogenlösung. Wir haben die verschiedenen Methoden, um die Fibrinogenlösung darzustellen, ausprobiert, doch der Leichtigkeit und Sicherheit der Technik wegen haben wir meistens nach unserer Methodik gearbeitet, die einige Verbesserungen des ursprünglichen Huiscampschen[1]) Verfahrens aufweist. 1 l Pferdeblut wird in 100 ccm Kaliumoxalatlösung von 10% aufgefangen und gleich nach seiner Ankunft aus dem Schlachthause scharf zentrifugiert; das ganz klare, zellfreie, abgehobene Plasma (600 bis 700 ccm) wird etwa eine Nacht lang in den Eisschrank gestellt. Das Plasma wird von dem sich bildenden weißen Niederschlag noch durch mehrmaliges Filtrieren mit Faltenpapier befreit. Dann wird das Plasma mit dem gleichen Volumen (600 bis 700 ccm) gesättigter kalkfreier Kochsalzlösung vermischt. Das Fibrinogen fällt jetzt durch lebhaftes Umrühren der Flüssigkeit mittels eines Glasstabes in großen Flocken aus, und schon setzt sich ein kleiner Teil davon als gallertiger, schmutzig-weißlicher Niederschlag am Boden des Gefäßes nieder. Da die noch in der Flüssigkeit schwimmenden Flocken sich nach 15 bis 20 Minuten langer Zentrifugierung zusammenballen, werden sie mittels eines Glasstabes herausgenommen, auf Filtrierpapier mit dem sich am Boden des Gefäßes niedergesetzten Niederschlag zusammengebracht und, um ihn möglichst von der Flüssigkeit zu befreien, mit Filtrierpapier gepreßt. Dieser erste Niederschlag wird in $^1/_6$ Volumen (100 bis 115 ccm) destilliertem Wasser (auf das ursprüngliche Plasma bezogen) aufgelöst. Die erste Lösung kann durch lebhaftes Umrühren der Flüssigkeit mittels eines Glasstabes beschleunigt werden. Nun wird der halbdurchsichtigen trüben Lösung

---

[1]) W. Huiscamp, Abderhalden, Handbuch der biochemischen Methode **2**, 366, 1909; Zeitschr. f. physiol. Chem. **46**, 273, 1905.

ein gleiches Volumen (100 bis 115 ccm) gesättigter kalkfreier Kochsalzlösung zugesetzt, und es bildet sich unter lebhaftem Umrühren erneut ein zweiter weißlicher Niederschlag, der sich in größerer Menge zäh am Boden des Gefäßes festsetzt. (Da ein kleiner Teil davon auch noch in flockigem Zustande in der Flüssigkeit schwimmt, wird er 15 bis 20 Minuten lang zentrifugiert und nach seinem Zusammenballen mit dem zweiten Niederschlag zusammengebracht, um den Verlust des Fibrinogens tunlichst zu vermeiden.) Man preßt ihn wenige Augenblicke am Boden des Gefäßes mit dem Glasstab zusammen, nimmt ihn dann heraus und löst ihn wieder in $^1/_8$ Volumen (75 bis 88 ccm) destilliertem Wasser (auf das ursprüngliche Plasma bezogen) auf. Man fährt nun in dieser Weise mit Fällen und Lösen des Fibrinogenniederschlages fort. Der dritte, ganz weißliche, gereinigte Niederschlag wird in $^1/_{10}$ Volumen (60 bis 70 ccm) destilliertes Wasser (auf das ursprüngliche Plasma bezogen) übertragen, dann durch Faltenpapier abfiltriert. Dabei wird jedoch ein kleiner, ungelöster Teil auf dem Faltenpapier zurückbleiben. Schließlich erhalten wir eine schwach bläuliche, opalescierende Lösung von reinem Fibrinogen. Unsere Fibrinogenlösung, deren Koagulationstemperatur meistens 55° beträgt, gerinnt spontan nicht, auch nicht durch Zusatz von Chlorcalcium, wohl aber durch Thrombin; bei einer Temperatur von 55° ist sie innerhalb 5 Minuten fest koaguliert. Die Fibrinogenlösung wurde jedesmal vor dem Versuche frisch dargestellt, weil sie sich trotz aller Vorsicht in 4 bis 5 Tagen spontan verändern würde und ihre Wirkung verloren ginge. Unmittelbar vor dem Versuche muß die Wirksamkeit der Fibrinogenlösung durch Zusatz von Pferdeserum (also Thrombinlösung) ausprobiert werden. Wenn die 0,5 ccm Fibrinogenlösung bei Zusatz von 1,0 ccm Pferdeserum innerhalb 15 bis 20 Minuten bei 37° nicht fest gerinnen würde, so wäre sie für den Versuch unbrauchbar. Als Kontrolle haben wir auch bei jedem Versuche zu untersuchen, ob die frisch dargestellte Fibrinogenlösung bei $CaCl_2$-Zusatz gerinnt. Wenn sie bei $CaCl_2$-Zusatz gerinnen würde, so wäre sie ungereinigt, daher für den Versuch unbrauchbar. Diese frische und ganz reine Fibrinogenlösung wird im Eisschrank aufbewahrt und zu Versuchen gebraucht.

3. Zubereitung des Magnesiumsulfatplasmas. Nach A. Schmidt[1]) werden 540 ccm Blut eines beliebigen Tieres (entweder Pferde- oder Kalbsblut) in 60 ccm Magnesiumsulfatlösung von 28% aufgefangen. Die Mischung wird sofort durchgeschüttelt und etwa 30 Minuten bis 1 Stunde lang zentrifugiert. Das in dieser Weise zubereitete, ganz klare und zellfreie Magnesiumsulfatplasma wird im Eisschrank aufbewahrt und zu Versuchen an Stelle von Fibrinogenlösung oftmals angewandt.

4. Serumgewinnung. Man fängt das Blut von einem beliebigen Tier (entweder vom Pferde, vom Rind, vom Kalb oder vom Kaninchen)

---

[1]) A. Schmidt, Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, 5, I, 260, 1909.

in einem vollkommen sauberen und trockenen Gefäße auf und läßt das Gefäß samt Inhalt ruhig stehen. Nach einiger Zeit beginnt das Blut zu gerinnen, und es bildet sich auf der Oberfläche eine dicke Haut. Diese klebt ziemlich fest an der Gefäßwand; mit Hilfe einer langen dicken Nadel löst man sie vorsichtig ab und erreicht auf diese Weise, daß der Blutkuchen sich ganz gleichmäßig zusammenzieht und das Serum manchmal ganz klar ausgepreßt wird. Im Fall einer Beimischung zelliger Elemente wird es zentrifugiert. Das mehrere Tage gestandene Blutserum ist weniger wirksam als frisches. Daher muß man immer ganz frisches Serum für Versuche benutzen.

5. Reagensgläschen. Da die Gerinnung in hochgradiger Weise von der Beschaffenheit des Glases beeinflußt wird, haben wir mit möglichst sauberen, trocknen und gleichen Reagensgläschen experimentiert.

6. Gerinnungsintensität. In den Tabellen ist die Gerinnungsintensität für flüssige (—), Flocken (+), als unvollständig (++) und vollständige (+++) Gerinnung angegeben. Man beobachtet den Eintritt der Gerinnung durch mehrmaliges, aber sehr vorsichtiges Neigen des Reagensgläschens. Bei vollständiger Gerinnung erstarrt die ganze Masse gelatinös, bei unvollständiger fließt die ganze Masse nicht mehr aus dem horizontal gehaltenen Reagensgläschen, und bei flockigem Zustande bleibt die ganze Masse vollständig flüssig, und die Flüssigkeit trübt sich durch feine Flocken.

7. Gerinnungszeit: Die folgenden Tabellen geben als Gerinnungszeit die Zeit entweder bis zur vollständigen, unvollständigen oder flockigen Gerinnung in Minuten an.

8. Die verschiedenen Versuchsmethoden werden an anderer Stelle ausführlich besprochen.

9. Im folgenden werden wir aus unseren zahlreichen Versuchen, jedesmal nur einen, als Beispiel angeben.

Eigene Versuche.

1. Versuche mit Knochenmark-Ringerextrakt und Fibrinogenlösung.

Die Fibrinogenlösung und der Knochenmark-Ringerextrakt wurden folgendermaßen gebraucht, um die Gerinnung zu untersuchen. In eine Reihe von Reagensgläschen wird eine bestimmte Menge des Knochenmark-Ringerextraktes getan; nämlich mit 0,1 ccm beginnend und bis 1,5 ccm aufsteigend. Dann wurde in jedes Reagensgläschen 0,5 ccm Fibrinogenlösung hinzugesetzt. Die Volumendifferenzen wurden mit den entsprechenden Quantitäten 1 $^0/_0$iger kalkfreier NaCl-Lösung ausgeglichen und die Gläschen 4 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Danach überzeugt man sich, in welchem der Gläschen nur Flocken, in welchem unvollständige und in welchem vollstän-

dige Gerinnung eingetreten ist; endlich untersuchen wir noch, welches ganz flüssig geblieben ist. Das Pferdeserum wurde bei diesem Versuch als Kontrolle benutzt. Wir finden dabei:

Tabelle I.

Protokollnummer VIII (25. IV. 1917).

In Gläschen Nr.	Knochenmark-Ringerextrakt ccm		Gerinnungsintensität nach 4 Stunden	Bemerkungen
1	0,1	+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung	++	1. Zimmertemperatur 14°.
2	0,2		++	2. 33 % Kalbsknochenmark-Ringerextrakt.
3	0,3		++	
4	0,4		++	
5	0,5		+++	
6	0,6		+++	
7	0,7		+++	
8	0,8		+++	
9	0,9		+++	
10	1,0		+++	
11	1,1		+++	
12	1,2		+++	
13	1,3		+++	
14	1,4		+++	
15	1,5		+++	

Tabelle II.

Protokollnummer VIII (25. IV. 1917).

In Gläschen Nr.	Knochenmark-Ringerextrakt ccm		Gerinnungsintensität nach 4 Stunden	Bemerkungen
1	0,1	+ 2,0 ccm $MgSO_4$-Plasma	+	1. Zimmertemperatur 14°.
2	0,2		+	2. 33 % Kalbsknochenmark-Ringerextrakt.
3	0,3		++	
4	0,4		++	
5	0,5		++	
6	0,6		++	
7	0,7		++	
8	0,8		+++	
9	0,9		+++	
10	1,0		+++	
11	1,1		+++	
12	1,2		+++	
13	1,3		+++	
14	1,4		+++	
15	1,5		+++	
Zur Kontrolle	Pferdeserum 1,5 + 2,0 ccm $MgSO_4$-P.			

Wir haben die Gerinnungsintensität des Knochenmark-Ringerextraktes auch mit 2,0 ccm Magnesiumsulfatplasma an

Stelle der Fibrinogenlösung geprüft. Also wurde in jedes Reagensgläschen 2,0 ccm Magnesiumsulfatplasma anstatt der Fibrinogenlösung hinzugesetzt. Die Veränderungen der Gerinnungsintensität beim Zusatz von Magnesiumsulfatplasma sind aus vorstehender Tabelle II ersichtlich.

Wie aus diesen beiden Tabellen hervorgeht, ist es Tatsache, daß das Knochenmark irgendeine gerinnungserregende Substanz enthält, wie diese auch im Blutserum vorhanden ist. Ja, sie kann die Fibrinogenlösung und das Magnesiumsulfatplasma schon bei Zimmertemperatur innerhalb 4 Stunden in verschiedener Stärke gerinnen lassen. Die Gerinnungsintensität ist um so stärker, je größer der Gehalt des Knochenmark-Ringerextraktes, also der gerinnungserregenden Substanz ist.

2. Versuche über die quantitative Bestimmung der gerinnungserregenden Substanz im Knochenmark.

Um den Gehalt der gerinnungserregenden Substanz im Knochenmark quantitativ zu bestimmen, gehen wir folgendermaßen vor:

Eine Reihe von Reagensgläschen wird mit absteigenden Mengen Knochenmark-Ringerextrakt gefüllt, die Volumendifferenzen mit den entsprechenden Quantitäten 1%iger, kalkfreier NaCl-Lösung ausgeglichen und jeder Portion 0,5 ccm Fibrinogenlösung zugefügt. Diese Gläschen lassen wir im Zimmer stehen. Hierauf wird das Eintreten der Gerinnung beobachtet. Wir notieren als Gerinnungszeit den Moment, in dem der Inhalt des Gläschens so fest ist, daß die Mischung von Knochenmark-Ringerextrakt und Fibrinogenlösung aus dem horizontal gehaltenen Gläschen nicht mehr ausfließen kann. Durch größere Übung erhält man in dieser Weise gut übereinstimmende Resultate. Die Gerinnungszeit gestattet daher, einen Schluß auf den relativen Gehalt an gerinnungserregender Substanz des untersuchten Knochenmark-Ringerextraktes zu ziehen. Auch bei diesem Versuch wurde das Pferdeserum als Kontrolle angewandt. Wir finden nämlich folgendes (s. Tab. III):

Die quantitative Bestimmung der gerinnungserregenden Substanz im Knochenmark fand auch mit Magnesiumsulfatplasma nach Wohlgemuth[1]) anstatt der Fibrinogenlösung

[1]) Wohlgemuth, diese Zeitschr. 27, 79, 1910.

Tabelle III.

Protokollnummer XIX (17. V. 1917).

In Gläschen Nr.	Knochenmark-Ringerextrakt ccm		Resultat Gerinnungsintensität	Resultat Geronnen nach Min.	Bemerkungen
1	0,1	+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung	++	113	1. Zimmertemperatur 20°.
2	0,2		++	92	2. 50% Kalbsknochenmark-Ringerextrakt.
3	0,3		++	77	
4	0,4		++	63	
5	0,5		++	58	
6	0,6		++	54	
7	0,7		++	51	
8	0,8		++	48	
9	0,9		++	47	
10	1,0		++	43	
11	1,1		++	42	
12	1,2		++	40	
13	1,3		++	39	
14	1,4		++	37	
15	1,5		++	34	
Zur Kontrolle:	Pferdeserum 1,5		++	148	

statt. Hierbei wurden 2,0 ccm Magnesiumsulfatplasma mit Knochenmark-Ringerextrakt gemischt. Die Resultate sind wie folgt:

Tabelle IV.

Protokollnummer IX (26. IV. 1917).

In Gläschen Nr.	Knochenmark-Ringerextrakt ccm		Resultat Gerinnungsintensität	Resultat Geronnen nach Min. beobachtet	Bemerkungen
1	0,1	+ 2,0 ccm $MgSO_4$-Plasma	+	360	1. Zimmertemperatur 15°.
2	0,2		++	325	2. Magnesiumsulfatplasma vom Pferde.
3	0,3		++	310	3. 33% Kalbsknochenmark-Ringerextrakt.
4	0,4		++	300	
5	0,5		++	280	
6	0,6		++	268	
7	0,7		++	255	
8	0,8		++	240	
9	0,9		++	236	
10	1,0		++	230	
11	1,1		++	228	
12	1,2		++	225	
13	1,3		++	210	
14	1,4		++	195	
15	1,5		++	180	
Zur Kontrolle:	Pferdeserum 1,5		++	180	

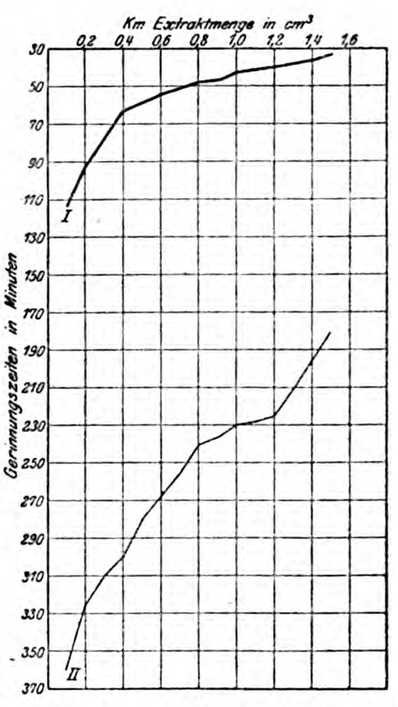


Fig. 1. Kurve I: Knochenmarkextrakt + Fibrinogen. Kurve II: Knochenmarkextrakt + $MgSO_4$ + Plasma.

Leider haben wir heutzutage keine spezielle Methode, welche die absolute Menge der gerinnungserregenden Substanz bestimmen läßt, doch können wir schließen, wie aus den oberen beiden Tabellen ersichtlich ist, daß die koagulierende Kraft der gerinnungserregenden Substanz im Knochenmark viel stärker ist als diejenige des Thrombins im Pferdeserum, und daß sie im Knochenmark dem Gehalt des Knochenmark-Ringerextraktes überhaupt proportional ist; mit andern Worten ist die Menge der gerinnungserregenden Substanz im Knochenmark um so größer, je größer die Menge des Knochenmarks ist.

Das Knochenmark-Ringerextrakt mit Fibrinogenlösung ist nach 34 Minuten geronnen, eine gleiche Menge Pferdeserum dagegen mit Fibrinogenlösung erst nach 140 Minuten. Obwohl der Thrombingehalt des Blutserums recht schwankend und besonders im Pferdeserum in sehr geringen Mengen enthalten ist, ist die Differenz der Gerinnungszeit zwischen beiden sehr groß. Dafür waren eine gleiche Menge Knochenmark-Ringerextrakt und Pferdeserum mit Zusatz von $MgSO_4$-Plasma nach gleicher Zeit geronnen. Es kommt dies vielleicht daher, weil das $MgSO_4$-Plasma auf die Gerinnung des Blutserums günstiger reagiert als auf den Knochenmark-Ringerextrakt.

Es ist nicht auffallend, daß die Gerinnungszeit der Mischung bei Magnesiumsulfatplasmazusatz viel langsamer als bei reinem Fibrinogenlösungszusatz ist, weil in dem $MgSO_4$-Plasma

Tabelle V.

Protokollnummer XI (2. IV.), XXXVII (31. V.), XL u. XLI (2. VI.).

In Gläschen Nr.	Knochen-mark-Ringer-extrakt ccm	Kalb Knochenmarkextrakt		Pferd Knochenmarkextrakt		Hund Knochenmarkextrakt		Schwein Knochenmarkextrakt		Kaninchen Knochenmarkextrakt	
		mit Fibrin. Min.	mit $MgSO_4$-P. Min.	mit Fibrin. Min.	mit $MgSO_4$-P. Min.	mit Fibrin. Min.	mit $MgSO_4$-P. Min.	mit Fibrin. Min.	mit $MgSO_4$-P. Min.	mit Fibrin. Min.	mit $MgSO_4$-P. Min.
1	0,1	+++ 112	+++ 380	+++ 90	+++ 320	+++ 110	+++ 328	+++ 133	+++ 426	+ 250	ohne Versuch
2	0,2	+++ 98	+++ 327	+++ 73	+++ 251	+++ 102	+++ 273	+++ 122	+++ 367	+ 250	
3	0,3	+++ 85	+++ 300	+++ 69	+++ 213	+++ 95	+++ 255	+++ 118	+++ 342	++ 232	
4	0,4	+++ 75	+++ 283	+++ 67	+++ 183	+++ 86	+++ 237	+++ 103	+++ 313	++ 104	
5	0,5	+++ 68	+++ 269	+++ 66	+++ 177	+++ 77	+++ 229	+++ 92	+++ 289	+++ 86	
6	0,6	+++ 58	+++ 2[illegible]8	+++ 63	+++ 168	+++ 70	+++ 221	+++ 89	+++ 273	+++ 75	
7	0,7	+++ 57	+++ 243	+++ 62	+++ 156	+++ 63	+++ 205	+++ 76	+++ 257	+++ 68	
8	0,8	+++ 55	+++ 232	+++ 57	+++ 147	+++ 58	+++ 197	+++ 72	+++ 241	+++ 65	
9	0,9	+++ 52	+++ 210	+++ 54	+++ 141	+++ 53	+++ 182	+++ 68	+++ 220	+++ 63	
10	1,0	+++ 50	+++ 191	+++ 52	+++ 135	+++ 46	+++ 173	+++ 64	+++ 209	+++ 61	
11	1,1	+++ 47	+++ 178	+++ 49	+++ 127	+++ 42	+++ 165	+++ 61	+++ 185	+++ 57	
12	1,2	+++ 45	+++ 163	+++ 47	+++ 119	+++ 39	+++ 159	+++ 56	+++ 177	+++ 53	
13	1,3	+++ 41	+++ 149	+++ 45	+++ 115	+++ 38	+++ 153	+++ 53	+++ 169	+++ 50	
14	1,4	+++ 35	+++ 137	+++ 33	+++ 108	+++ 37	+++ 148	+++ 48	+++ 1[illegible]2	+++ 47	
15	1,5	+++ 32	+++ 105	+++ 30	+++ 93	+++ 36	+++ 145	+++ 46	+++ 138	+++ 45	

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 18,5 bis 20°. 2. 33 % Kalbs-, Pferde- u. Schweinsknochenmark-Ringerextrakt. 3. 17 % Hundeknochenmark-Ringerextrakt. 4. 13 % Kaninchenknochenmark-Ringerextrakt.

außer Fibrinogen noch verschiedene andere Substanzen vorhanden sind.

Die Menge der gerinnungserregenden Substanz im Knochenmark ist variabel, wie auch das Blut je nach der Tierart im Verlauf von einigen Minuten bis Stunden gerinnt, z. B. (s. Tab. V).

Weil infolge der Verschiedenheit der absoluten Menge des in unserm Besitz gelangten Knochenmarks der Prozentgehalt des dargestellten Knochenmark-Ringerextraktes verschieden war, ist natürlich die absolute Vergleichung der Gerinnungszeit untereinander unmöglich, doch scheint uns die koagulierende Kraft des Schweinsknochenmark-Ringerextraktes am schwächsten zu sein. Auch bei diesem Versuch ist die Gerinnungszeit der Mischung bei $MgSO_4$-Plasmazusatz viel langsamer als bei Fibrinogenlösungszusatz.

3. Versuche über einen Vergleich der koagulierenden Kraft der gerinnungserregenden Substanz im Knochenmark mit dem Thrombin im Blutserum.

Da wir schon beim 1. und 2. Versuch wahrnehmen konnten, daß irgendeine gerinnungserregende Substanz im Knochenmark

Tabelle VI.
Protokollnummer XV und XVIII (3. V. 1917).

In Gläschen Nr.	Knochenmark-Ringerextrakt oder Blutserum ccm		Resultat		Differenzen	
			Knochenmark-Ringerextrakt Min.	Blutserum Min.	absolute Zahl Min.	Knochenmarkextrakt / Serum Min.
1	0,1	+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung	+++ 138	+++ 240	— 102	1,7
2	0,2		+++ 120	+++ 238	— 118	2,0
3	0,3		+++ 110	+++ 235	— 125	2,1
4	0,4		+++ 104	+++ 233	— 129	2,2
5	0,5		+++ 98	+++ 231	— 133	2,4
6	0,6		+++ 86	+++ 229	— 143	2,4 +
7	0,7		+++ 78	+++ 228	— 150	2,9
8	0,8		+++ 67	+++ 227	— 160	3,4
9	0,9		+++ 54	+++ 224	— 170	4,1
10	1,0		+++ 48	+++ 200	— 152	4,2
11	1,1		+++ 43	+++ 187	— 144	4,3
12	1,2		+++ 40	+++ 176	— 136	4,4
13	1,3		+++ 35	+++ 170	— 135	4,9
14	1,4		+++ 29	+++ 158	— 129	5,7
15	1,5		+++ 22	+++ 140	— 118	6,4

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 16°. 2. Blutserum vom Pferde. 3. 50 % Knochenmark-Ringerextrakt vom Pferde.

enthalten ist, versuchten wir die koagulierende Kraft derselben Substanz mit Blutserum, also mit der Thrombinlösung, untereinander in verschiedenen Mengen zu vergleichen. Steigende Mengen Knochenmark - Ringerextraktes und Blutserums (0,1 bis 1,5 ccm) werden mit physiologischer NaCl-Lösung auf 1,5 ccm ergänzt und jeder Portion 0,5 ccm Fibrinogenlösung zugesetzt. Dann lassen wir diese Reagensgläschen im Zimmer stehen, und die Gerinnungszeit wird in üblicher Weise festgestellt. Wir finden folgendes (s. Tab. VI):

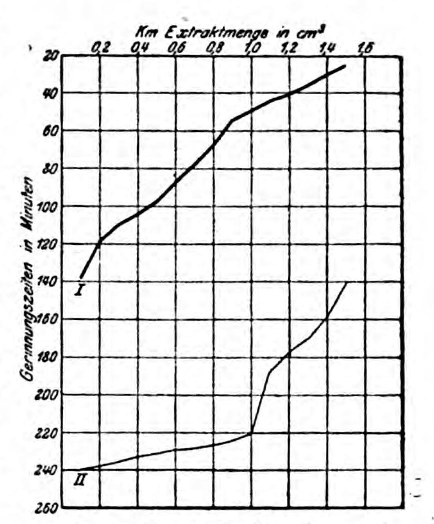


Fig. 2. Kurve I: Knochenmarkextrakt + Fibrinogen. Kurve II: Blutserum + Fibrinogen.

Aus Tabelle VI folgt, daß die koagulierende Kraft des Knochenmark-Ringerextraktes viel stärker als die des Blutserums im gleichen Tiere ist; also ist die koagulierende Kraft des Knochenmark-Ringerextraktes bei Nr. 1 1,7 mal, bei Nr. 7 2,9 mal und bei Nr. 15 6,4 mal stärker als diejenige des Blutserums — mit andern Worten ist die koagulierende Kraft des Knochenmarkes um so stärker als diejenige des Blutserums, je größer die Menge des Knochenmarks ist.

Wir glauben, daß die Gerinnungszeit des Knochenmark-Ringerextraktes mit Fibrinogenlösung bei verschiedenen Tierarten verschieden sein wird, da diejenige des Blutes bei verschiedenen Tieren ungleich ist. Daher haben wir die koagulierende Kraft des Knochenmark-Ringerextraktes mit derjenigen des Blutserums an verschiedenen Tieren untereinander verglichen, und zwar wie folgt: (s. Tab. VII.)

Wie die Tabelle VII zeigt, ist die koagulierende Kraft des Knochenmark-Ringerextraktes stärker als diejenige des Blutserums im gleichen Tiere, und diese Beziehung ist auch ganz gleich bei verschiedenen Tieren. Beim Vergleiche der Gerinnungszeit des Knochenmark-Ringerextraktes und des Blut-

Tabelle VII.
Protokollnummer XI und XII (27. IV.), XV und XVIII (31. V.), XXXVIII und XLI (2. VI.).

In Gläschen Nr.	Knoch.-mark-Ringerextrakt od. Blutserum ccm		Kaninchen Knochenmark-extrakt Min.	Kaninchen Serum Min.	Pferd Knochenmark-extrakt Min.	Pferd Serum Min.	Kalb Knochenmark-extrakt Min.	Kalb Serum Min.	Hund Knochenmark-extrakt Min.	Hund Serum Min.
1	0,1	+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung	+ } beobacht 250	+ } beob-achtet 245	+++ 138	+++ 240	+++ 112	+++ 196	+++ 110	+++ 183
2	0,2		+	+	+++ 120	+++ 238	+++ 98	+++ 172	+++ 102	+++ 167
3	0,3		++ 232	+	+++ 110	+++ 235	+++ 85	+++ 164	+++ 95	+++ 159
4	0,4		+++ 104	+	+++ 104	+++ 233	+++ 75	+++ 156	+++ 86	+++ 154
5	0,5		+++ 86	+	+++ 98	+++ 231	+++ 68	+++ 147	+++ 77	+++ 142
6	0,6		+++ 75	+	+++ 86	+++ 229	+++ 58	+++ 143	+++ 70	+++ 138
7	0,7		+++ 68	++ 238	+++ 78	+++ 228	+++ 57	+++ 141	+++ 63	+++ 134
8	0,8		+++ 65	++ 230	+++ 67	+++ 227	+++ 55	+++ 139	+++ 58	+++ 132
9	0,9		+++ 63	+++ 224	+++ 54	+++ 224	+++ 52	+++ 137	+++ 53	+++ 130
10	1,0		+++ 61	+++ 210	+++ 48	+++ 200	+++ 50	+++ 136	+++ 46	+++ 127
11	1,1		+++ 57	+++ 187	+++ 43	+++ 187	+++ 47	+++ 133	+++ 42	+++ 124
12	1,2		+++ 53	+++ 170	+++ 40	+++ 176	+++ 45	+++ 131	+++ 39	+++ 121
13	1,3		+++ 50	+++ 164	+++ 35	+++ 170	+++ 41	+++ 129	+++ 38	+++ 119
14	1,4		+++ 47	+++ 156	+++ 29	+++ 158	+++ 35	+++ 125	+++ 37	+++ 117
15	1,5		+++ 45	+++ 138	+++ 22	+++ 140	+++ 32	+++ 122	+++ 36	+++ 116

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 17 bis 19°. 2. 13% Kaninchenknochenmark-Ringerextrakt. 3. 17% Hundeknochenmark-Ringerextrakt. 4. 33% Pferde- und Kalbsknochenmark-Ringerextrakt.

serums an verschiedenen Tieren mit Zusatz von Fibrinogenlösung fanden wir, daß die Gerinnungszeit des Knochenmark-Ringerextraktes am gleichen Tier nicht rascher eingetreten ist als diejenige an einem andern Tiere, obwohl das Blutserum am selben Tier rascher als dasjenige an einem andern geronnen war.

Ferner probierten wir, die Einwirkung der Thrombokinase auf den Knochenmark-Ringerextrakt und auf das Blutserum miteinander zu vergleichen. Als Thrombokinase brauchten wir Koagulen Kocher-Fonio[1]). Eine Reihe von Reagensgläschen wird nun mit absteigenden Mengen (1,5 bis 0,1 ccm) von Knochenmark-Ringerextrakt oder Blutserum gefüllt, die Volumendifferenzen mit physiologischer, kalkfreier NaCl-Lösung ausgeglichen und in jedes Gläschen je 0,5 ccm Fibrinogenlösung und je 2 Tropfen Koagulenlösung (3%) hinzugefügt.

---

[1]) Kocher-Fonio, Korrespondenzbl. f. Schweizer Ärzte, Heft 13 bis 15, 1913.

Dann werden alle Reagensgläschen nach Umschütteln bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Als Kontrolluntersuchung wird eine andere Reihe von Reagensgläschen mit Knochenmark-Ringerextrakt (1,5 bis 0,1 ccm), Fibrinogenlösung (je 0,5 ccm) und 1 %iger NaCl-Lösung zum Ausgleich der Volumendifferenzen benutzt. Das gefundene Resultat zeigt folgendes:

Tabelle VIII.

Protokollnummer XXXIII und XXXIV (24. und 25. V. 1917).

In Gläschen Nr.	Knochenmark-Ringerextrakt oder Blutserum ccm		Knochenmark-Ringerextrakt		Blutserum	
			mit Koagulen Min.	ohne Koagulen Min.	mit Koagulen Min.	ohne Koagulen Min.
1	0,1	+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung	+++ 380	+++ 360	+++ 242	+++ 250
2	0,2		+++ 362	+++ 250	+++ 223	+++ 226
3	0,3		+++ 214	+++ 205	+++ 213	+++ 215
4	0,4		+++ 196	+++ 171	+++ 198	+++ 209
5	0,5		+++ 145	+++ 112	+++ 175	+++ 203
6	0,6		+++ 99	+++ 85	+++ 169	+++ 189
7	0,7		+++ 89	+++ 77	+++ 161	+++ 178
8	0,8		+++ 74	+++ 70	+++ 156	+++ 165
9	0,9		+++ 60	+++ 47	+++ 150	+++ 159
10	1,0		+++ 59	+++ 43	+++ 147	+++ 148
11	1,1		+++ 53	+++ 39	+++ 145	+++ 148
12	1,2		+++ 42	+++ 35	+++ 143	+++ 146
13	1,3		+++ 39	+++ 31	+++ 142	+++ 145
14	1,4		+++ 36	+++ 27	+++ 140	+++ 144
15	1,5		+++ 34	+++ 24	+++ 138	+++ 142

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 20 bis 21°. 2. Blutserum vom Pferde. 3. 50 % Kalbsknochenmark-Ringerextrakt.

In diesem Versuch sehen wir, daß die koagulierende Kraft des Knochenmark-Ringerextraktes bei Koagulenzusatz etwas abgeschwächt wurde, wogegen sich im Gegenteil diejenige des Blutserums bei Koagulenzusatz etwas verstärkte. Der Unterschied mit Koagulen und ohne Koagulen ist auf jeden Fall ganz klein. Es ist schwer, diese Ergebnisse zu erklären, denn es muß irgendein komplizierter Vorgang zwischen Koagulen und Knochenmark resp. Blutserum vorhanden sein.

4. Versuche über die Wirkung der Fibrinogenlösung bei absteigender Dosis.

Wir haben im vorhergehenden Versuch die Gerinnungszeit der steigenden Knochenmark-Ringerextraktmengen bei gleichbleibender Fibrinogenlösungsmenge festgestellt. Nun wollen wir

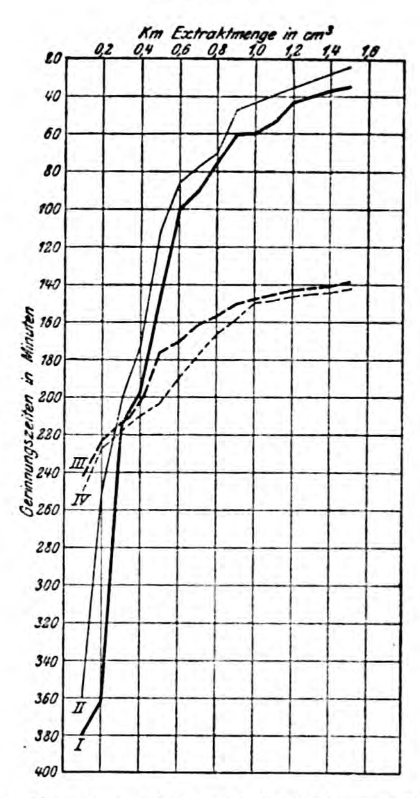


Fig. 3. Kurve I: Knochenmarkextrakt + Fibrinogen + Koagulenzusatz. Kurve II: Knochenmarkextrakt + Fibrinogen. Kurve III: Blutserum + Fibrinogen + Koagulenzusatz. Kurve IV: Blutserum + Fibrinogen.

die Veränderungen der Gerinnungszeit in umgekehrten Verhältnissen untersuchen, — also wird eine Reihe von Reagensgläschen mit steigenden Fibrinogenmengen (0,1 bis 1,5 ccm) gefüllt und in jedes Gläschen je 0,5 ccm Knochenmark-Ringerextrakt hinzugefügt, die Volumendifferenzen mit 1 $^0/_0$iger NaCl-Lösung ergänzt. Als Kontrolle wird eine andere Reihe von Reagensgläschen mit steigenden Knochenmark-Ringerextraktmengen (0,1 bis 1,5 ccm) gefüllt, auf 1,5 ccm mit 1 $^0/_0$iger NaCl-Lösung ergänzt und in jedes Gläschen je 0,5 ccm Fibrinogenlösung zugesetzt. Dann werden alle diese Reagensgläschen nach Umschütteln bei Zimmertemperatur stehen gelassen und in üblicher Weise der Eintritt der Gerinnung kontrolliert. Wir finden nämlich:

Tabelle IX.

Protokollnummer XLVIB und XLVII (16. VI. 1917).

In Gläschen Nr.	Fibrinogen ccm		Geronnen nach Min.	Knochenmark-Ringerextrakt ccm		Geronnen nach Min.
1	0,1		+++ 91	0,1		+++ 66
2	0,2		+++ 85	0,2		+++ 53
3	0,3		+++ 72	0,3		+++ 42
4	0,4		+++ 67	0,4		+++ 36
5	0,5		+++ 67	0,5		+++ 31
6	0,6		+++ 67	0,6		+++ 27
7	0,7	+ 0,5 ccm Knochenmarkextrakt	+++ 67	0,7	+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung	+++ 24
8	0,8		+++ 67	0,8		+++ 20
9	0,9		+++ 64	0,9		+++ 18
10	1,0		+++ 64	1,0		+++ 15
11	1,1		+++ 64	1,1		+++ 13
12	1,2		+++ 64	1,2		+++ 11
13	1,3		+++ 64	1,3		+++ 10
14	1,4		+++ 64	1,4		+++ 9
15	1,5		+++ 64	1,5		+++ 8

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 21,5 °. 2. 50 % Kalbs knochenmark-Ringerextrakt.

Steigt die Menge der Fibrinogenlösung bei gleichbleibender Knochenmark-Ringerextraktmenge, so wird dadurch zunächst der Ablauf der Gerinnung verzögert, und es sind sogar die Differenzen der Gerinnungszeit ganz klein.

5. **Versuche über die Beziehung zwischen der im Knochenmark vorhandenen gerinnungserregenden Substanz und dem Chlorcalcium.**

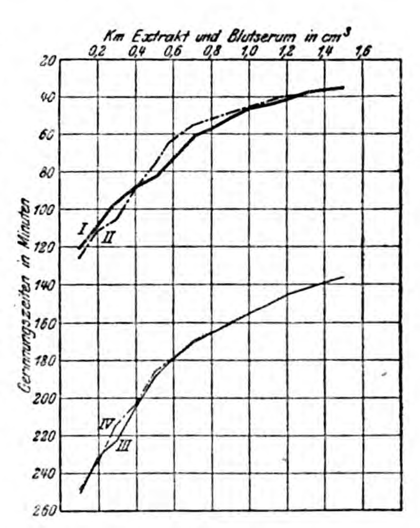


Fig. 4. Kurve I: steigende Mengen des Fibrinogens bei gleichbleibender Menge des Knochenmarkextraktes. Kurve II: steigende Mengen des Knochenmarkextraktes bei gleichbleibender Menge des Fibrinogens.

Es ist bekannt, daß Chlorcalcium für die Gerinnung überhaupt notwendig ist. Um zu erfahren, ob $CaCl_2$, das in der zum Extrahieren des Knochenmarkes benutzten

Ringerlösung enthalten ist, auf die vom Knochenmarkextrakt bewirkte Gerinnung der Fibrinogenlösung von Einfluß ist oder nicht, haben wir durch Knochenmark-Kochsalzextrakt geprüft.

Eine Bemerkung über das Kochsalz, das wir für unsere Versuchsreihe gebraucht haben, mag hier am Platze sein. Zuerst müssen wir feststellen, ob das zu allen Versuchen verwendete Kochsalz Chlorcalcium enthält oder nicht. Unser Kochsalz ist chemisch ganz rein, und mittels Ammoniumoxalatlösung konnten wir keine Spur von Kalksalzen nachweisen.

Nun wird eine Reihe von Reagensgläschen mit fallenden Knochenmark-NaCl-Extraktmengen (1,5 bis 0,1 ccm) gefüllt, auf 1,5 ccm mit 1 %iger NaCl-Lösung ergänzt und in jedes Gläschen je 0,5 ccm Fibrinogenlösung und je 2 Tropfen $CaCl_2$-Lösung (0,5 %) hinzugefügt. Dann werden alle Reagensgläschen nach Umschütteln bei Zimmertemperatur stehen gelassen und dann das Eintreten der vollständigen Gerinnung beobachtet. Als Kontrolluntersuchung wird eine andere Reihe von Reagens-

Tabelle X.

Protokollnummer XLVIB (16. VI. 1917).

In Gläschen Nr.	Knochenmarkextrakt ccm		Knochenmark-NaCl-Extrakt ohne $CaCl_2$ Min.	Knochenmark-NaCl-Extrakt mit $CaCl_2$ Min.	Knochenmark-Ringerextrakt Min.	Differenzen zwischen NaCl-Extrakt ohne $CaCl_2$ und NaCl-Extrakt mit $CaCl_2$ Min.	Differenzen zwischen NaCl-Extrakt ohne $CaCl_2$ und Ringerextrakt Min.
1	0,1		+++ 87	+++ 27	+++ 66	— 60	— 21
2	0,2		+++ 69	+++ 21	+++ 53	— 48	— 16
3	0,3		+++ 57	+++ 18	+++ 42	— 39	— 15
4	0,4		+++ 44	+++ 16	+++ 36	— 28	— 8
5	0,5		+++ 38	+++ 14 1/4	+++ 31	— 23 3/4	— 7
6	0,6		+++ 33	+++ 13 1/2	+++ 27	— 19 1/2	— 6
7	0,7		+++ 29	+++ 12 3/4	+++ 24	— 16 1/4	— 5
8	0,8	+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung	+++ 25	+++ 11 1/2	+++ 20	— 13 1/2	— 5
9	0,9		+++ 22	+++ 10 1/2	+++ 18	— 11 1/2	— 4
10	1,0		+++ 20	+++ 9	+++ 15	— 11	— 5
11	1,1		+++ 17	+++ 8	+++ 13	— 9	— 4
12	1,2		+++ 15	+++ 7 3/4	+++ 11	— 7 1/4	— 4
13	1,3		+++ 13	+++ 7 1/4	+++ 10	— 5 3/4	— 3
14	1,4		+++ 12 1/2	+++ 7	+++ 9	— 5 1/2	— 3 1/2
15	1,5		+++ 11	+++ 6	+++ 8	— 5	— 3

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 21,5°. 2. 50 % Knochenmark-Ringerextrakt. 3. 50 % Knochenmark-NaCl-Extrakt.

gläschen mit Knochenmark-NaCl-Extrakt (1,5 bis 0,1 ccm), Fibrinogenlösung (je 0,5 ccm) und 1 %iger NaCl-Lösung zum Ausgleich der Volumendifferenzen benutzt. Um noch die koagulierende Kraft des Knochenmark-NaCl-Extraktes mit derjenigen des Knochenmark-Ringerextraktes zu vergleichen, wird eine dritte Reihe von Reagensgläschen mit dieser (1,5 bis 0,1 ccm) Fibrinogenlösung (je 0,5 ccm) und 1 %iger NaCl-Lösung zur Ergänzung der Volumendifferenzen benutzt. Das Resultat ergab folgendes (s. Tab. X):

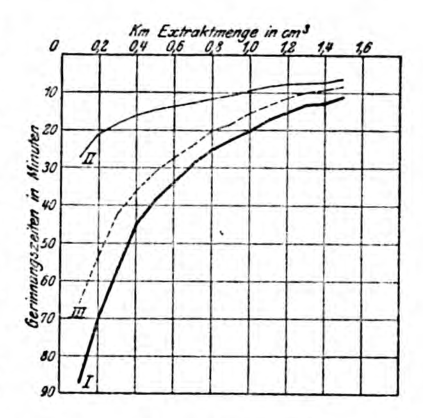


Fig. 5. Kurve I: Knochenmark-NaCl-Extrakt ohne $CaCl_2$ + Fibrinogen. Kurve II: Knochenmark-NaCl-Extrakt mit $CaCl_2$ + Fibrinogen. Kurve III: Knochenmark-Ringerextrakt + Fibrinogen.

Es ist ganz klar, daß die gerinnungserregende Substanz im Knochenmark vom $CaCl_2$ stark beeinflußt wird. Hier finden wir, daß die Einwirkung des $CaCl_2$ auf Knochenmarkextrakt um so größer ist, je kleiner die Menge des Knochenmarkextraktes.

Steigt die Menge einer $CaCl_2$-Lösung bei gleichbleibender Menge des Knochenmark-NaCl-Extraktes und der Fibrinogenlösung, so tritt die Gerinnung wesentlich schneller in typischer Weise ein. Z. B. (s. Tab. XI.)

Kann der Knochenmark-NaCl-Extrakt mit Fibrinogenlösung ohne Zusatz von $CaCl_2$ koagulieren? Ja, das Knochenmark enthält schon von vornherein als eigene Bestandteile etwas $CaCl_2$. Beweis:

Protokollnummer XLVI A. 11. V. 1917.

25,7 g Kalbsknochenmark wird mit 51,4 ccm 0,9 %iger NaCl-Lösung (in dieser NaCl-Lösung konnte man keine Spur $CaCl_2$ nachweisen) 3 Stunden lang extrahiert, dann nach dem Filtrieren durch Gaze zentrifugiert und wieder mit Faltenpapier filtriert. Das zellfreie NaCl-Extrakt des Knochenmarkes wurde bei Zusatz von Essigsäure schwach gesäuert und erst nach

Tabelle XI.

Protokollnummer XLIV (7. VI. 1917).

In Gläschen Nr.	Mischung		Geronnen nach Min.
1	0,5 ccm Knochenmark-NaCl-Extrakt + 0,5 ccm Fibrinogenlösung + 0,5 % $CaCl_2$	1 Tropfen	+++ 19
2		2 „	+++ 13
3		3 „	+++ 12
4		4 „	+++ $10^1/_2$
5		5 „	+++ 10
6		6 „	+++ $9^1/_2$
7		7 „	+++ $9^3/_4$
8		8 „	+++ 9
9		9 „	+++ $8^1/_2$
10		10 „	+++ 8
11		11 „	+++ $7^1/_2$
12		12 „	+++ $6^1/_2$
13		13 „	+++ 6
14		14 „	+++ $5^1/_2$
15		15 „	+++ 5
zur Kontrolle:			
1	Knochenmark-NaCl-Extrakt 0,5 ccm + Fibrinogenlösung 0,5 ccm		+++ 23′
2	Knochenmark-Ringerextrakt 0,5 ccm + Fibrinogenlösung 0,5 ccm		+++ 8′
3	Fibrinogenlösung 0,5 ccm + 0,5 % $CaCl_2$ 3 Tropfen		nicht geronn.

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 23°. 2. Die Volumendifferenzen werden mit 1 % NaCl-Lösung ausgeglichen. 3. 50 % Knochenmark-Ringer- und NaCl-Extrakt.

Enteiweißung durch Koagulation der Eiweißkörper in der Siedehitze unter lebhaftem Umrühren filtriert. Dem ganz klaren Filtrat wurden einige Tropfen Ammoniumoxalatlösung zugesetzt, dabei beobachtete man die Entstehung einer ziemlichen Trübung, — also wurde das Chlorcalcium im Knochenmark durch diesen Versuch nachgewiesen.

Aus dieser Tatsache folgt, daß die im Knochenmark vorhandene gerinnungserregende Substanz sich schon im Knochenmark mit $CaCl_2$ verbindet und in aktiver Form auftritt, das im Knochenmark ziemlich reichlich enthalten ist. Mit andern Worten, die gerinnungserregende Substanz im Knochenmark ist schon als „Thrombin“ vorhanden.

Von jetzt an werden wir diese gerinnungserregende Substanz im Knochenmark als „Knochenmarkthrombin“ bezeichnen.

6. Versuche über den Einfluß der Temperatur auf die Gerinnung durch das Knochenmarkthrombin.

Es war von Interesse, den Einfluß der Temperatur, der so vielfach beim Serumthrombin untersucht worden ist und der bei den theoretischen Betrachtungen über das Wesen des Gerinnungsvorganges eine so große Rolle gespielt hat, auch beim Knochenmarkthrombin zu prüfen. Um die Gerinnungsgeschwindigkeit der Mischung von Knochenmarkthrombin und Fibrinogenlösung bei verschiedenen Temperaturen zu untersuchen, werden eine Reihe von Reagensgläschen mit 1,0 ccm Knochenmark-Ringerextrakt und 0,5 ccm Fibrinogenlösung gefüllt und in ein Wasserbad gestellt, das während der Beobachtung auf der gewünschten Temperatur erhalten wird. Durch mehrmaliges, aber sehr vorsichtiges Neigen der Reagensgläschen wird der Moment festgestellt, wo die Gerinnung eingetreten ist. Zur Kontrolle wurde unter ganz gleichen Bedingungen die Gerinnungsgeschwindigkeit des Serumthrombins untersucht.

Tabelle XII.

Protokollnummer XLI. B. (26. VII. 1917).

Nr. In Gläschen	Mischung:	Geprüfte Temperatur °	Geronnen nach: Knochenmarkextrakt Min.	Geronnen nach: Serum Min.	Bemerkungen
1	1,0 ccm Knochenmark-Ringerextrakt oder 1,0 ccm Blutserum + 0,5 ccm Fibrinogenlösung	15	+++ 39	+++ 218	1. 50 % Kalbsknochenmark-Ringerextrakt. 2. Blutserum vom Pferde.
2		20	+++ 23	+++ 127	
3		25	+++ $20^1/_2$	+++ 53	
4		30	+++ 18	+++ 43	
5		35	+++ 10	+++ 20	
6		36	+++ $7^1/_2$	+++ 12	
7		37	+++ 4	+++ 11	
8		38	+++ 5	+++ 15	
9		39	+++ 7	+++ 21	
10		40	+++ 9	+++ 24	
11		45	+++ 19	+++ 48	
12		50	+++ 62	+++ 180	

Es ergab sich aus diesen Versuchen, daß die Gerinnungsgeschwindigkeit bei Erhöhung der Temperatur von 15 bis 37° zunimmt, worauf sie von 38° an allmählich wieder absinkt. Bei 37° erreicht die Gerinnungsgeschwindigkeit ihr Maximum. Im Intervall von 0° bis 10° kommt es in der Mischung von Knochenmarkextrakt oder von Blutserum mit Fibrinogenlösung

überhaupt nicht zur Ausbildung einer deutlichen Gerinnung. Daher werden in diesem Temperaturintervall keine Prüfungen vorgenommen. Auch bei Temperaturen zwischen 10 bis 15° sowie bei solchen über 45° gerinnt die Mischung sehr träge.

Somit stimmen die oben erwähnten Befunde mit denen von Landsberg[1]) im wesentlichen überein; er fand bei seinen Versuchen mit Fibrinogen- und Thrombinlösung (Schmidt), daß die Reaktionsgeschwindigkeit beim Erhöhen der Temperatur bis zu ungefähr 37° steigt, und daß sich bei 40° schon eine Verzögerung der Reaktion wahrnehmen läßt. Rettger[2]), der ebenfalls mit Fibrinogenlösung experimentiert hat, erhielt andere Resultate, nämlich, daß die Temperatur zwischen 17 und 41° keinen merklichen Einfluß auf die Gerinnungsgeschwindigkeit der Mischung von Thrombin- und Fibrinogenlösung ausübt. Es liegt dies vielleicht daran, daß er bei seinen Untersuchungen das eiweißreiche Thrombin von Howell benutzt hat. Nach Stromberg[3]) nimmt auch die Gerinnungsgeschwindigkeit des Blutes bei Erhöhen der Temperatur bis zu 17° sehr stark zu, bleibt dann bei weiterem Steigen der Temperatur gleich bis ungefähr zu 40°, um nachher allmählich zu sinken. Die Verschiedenheit der Resultate zwischen ihm und zwischen Landsberg und uns kann vielleicht durch im Blute vorhandene Zellen hervorgerufen worden sein.

Zweitens haben wir die Gerinnungsintensität der verschiedenen Knochenmark-Thrombinmengen bei 37° untersucht. Den steigenden Mengen eines 50%igen Kalbsknochenmark-Ringerextraktes (0,1 bis 1,5 ccm) wird 0,5 ccm Fibrinogenlösung zugesetzt und mit 1%iger NaCl-Lösung auf 2,0 ccm ergänzt. Die Gläschen kommen während 15 Minuten in ein Wasserbad von 37°. Nachher kontrolliert man, wie stark die Gerinnung in den betreffenden Gläschen eingetreten ist. Auch bei diesem Versuch wurde das Pferdeserum als Kontrolle unter ganz gleichen Bedingungen benutzt. Das erhaltene Resultat ist folgendes (s. Tab. XIII):

Aus diesem Versuch konnten wir feststellen, daß die Gerinnungsintensität des Thrombins in Knochenmark und im Blut-

[1]) Landsberg, diese Zeitschr. 50, 245, 1913.
[2]) Rettger, Amer. Journ. of Physiol. 24, 406, 1909.
[3]) Stromberg, diese Zeitschr. 37, 177, 1911.

Tabelle XIII.
Protokollnummer LXI. C. (25. VII. 1917).

In Gläschen Nr.	Mischung		Gerinnungsintensität nach 15′	
			Knochenmarkextrakt	Blutserum
1	0,1	ccm Knochenmarkextrakt oder Serum + 0,5 ccm Fibrinogenlösung bei 37°	—	—
2	0,2		—	—
3	0,3		—	—
4	0,4		+	—
5	0,5		++	+
6	0,6		+++	++
7	0,7		+++	++
8	0,8		+++	++
9	0,9		+++	++
10	1,0		+++	+++
11	1,1		+++	+++
12	1,2		+++	+++
13	1,3		+++	+++
14	1,4		+++	+++
15	1,5		+++	+++

serum bei 37° von den Mengen dieses Thrombins abhängt, und daß die Gerinnungsintensität des Knochenmarkthrombins stärker als diejenige des Serumthrombins ist.

Die eigentümliche Abhängigkeit der Gerinnung von der Temperatur hat, wie ich oben andeutete, theoretische Bedeutung. Es ist nämlich der Verlauf der Temperaturgerinnungskurve als ein Argument gegen die Enzymnatur des Thrombins verwertet worden. Daß mit zunehmender Temperatur die Reaktionsgeschwindigkeiten nicht der vant' Hoffschen Temperaturregel folgen, schien sehr dagegen zu sprechen, daß es sich bei der Gerinnung um einen enzymatischen Prozeß handle. Verschiedene Autoren, die über diesen Gegenstand gearbeitet haben, haben versucht, den Verlauf der Kurve der Temperaturabhängigkeit zu erklären, bald durch Deutungen, die ganz von der Annahme eines Fermentes absehen, bald durch Hilfshypothesen, die, falls sie zutreffend wären, durchaus mit der Annahme eines echten fermentativen Vorganges bei der Gerinnung vereinbar wären.

Alle bisherigen Versuche dieser Art sind mit Fermentlösungen angestellt worden, die aus dem Blute stammten und von einer mehr oder weniger verwickelten Zusammensetzung waren. Da meine Knochenmarkthrombinlösungen im Vergleich hierzu viel einfacherer Art, dabei aber von größerer Wirksam-

keit waren, habe ich etwas eingehendere direkte Versuche über den Einfluß der Temperatur auf das Knochenmarkthrombin selbst angestellt. Zu diesem Zwecke wurde eine Reihe von Reagensgläschen mit je 1,0 ccm Kalbsknochenmark-Ringerextrakt (50 %) gefüllt und kamen für eine Zeit von 20 Minuten in ein Wasserbad, das während dieser Zeit auf der gewünschten Versuchstemperatur erhalten wurde. Hierauf wurde die Lösung auf Zimmertemperatur gebracht, und es wurde ein Zusatz von je 0,5 ccm Fibrinogenlösung gemacht. Die Gläschen werden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, und es wird dann festgestellt, nach wieviel Zeit in den einzelnen Gläschen die Gerinnung eingetreten ist.

Das über 50° erwärmte Knochenmarkextrakt trübt sich um so mehr, je stärker es erwärmt worden war, doch haben wir die Koagulation desselben niemals bei hoher Temperatur beobachten können.

Tabelle XIV.

Protokollnummer LVII (5. VII. 1917).

In Gläschen Nr.	Mischung		Geronnen nach Min.
		°	
1	1,0 ccm Knochenmarkextrakt bei	10	+++ 12
2		18 (Zimmertemperatur)	+++ 14
3		25	+++ 19
4		30	+++ 24
5		35	+++ 32
6		40	+++ 46
7		45	+++ 58
8		50	+++ 83
9		55	– nicht geronnen (24 Stunden beobachtet)
10		60	–
11		65	–
12		70	–

Bemerkungen: Das Knochenmark — Ringerextrakt — ist unmittelbar nach der Darstellung bei Zimmertemperatur (18°) nach 9′ fest geronnen.

In Tabelle XIV sind die Resultate dieser Versuchsreihe niedergelegt. Es ergibt sich hieraus, daß schon eine Temperatur von 10° das Gerinnungsvermögen des Knochenmarkthrombins herabsetzt, wie der Kontrollversuch ergibt. Wird das Knochenmarkthrombin steigenden Temperaturen ausgesetzt, so nimmt, bemessen an den Gerinnungszeiten, das Koagulations-

vermögen des Knochenmarkthrombins mehr und mehr ab. Da in meinen Versuchen die Menge des Thrombins und des Fibrinogens konstant gehalten wurden, da ferner der Gerinnungsprozeß selber bei stets gleichbleibender Temperatur stattfand, ist es durch meine Versuchsanordnungen gelungen, den Temperatureinfluß rein isoliert auf eine Komponente, die am Vorgang beteiligt ist, zum Ausdruck gelangen zu lassen. Betrachtet man, wie beifolgende Kurve der Ergebnisse der Tabellen XII, XIV und XV (Fig. 6) zeigt, nebeneinander die Kurven, die die Abhängigkeit der Gerinnungsgeschwindigkeit der Mischung Thrombin-Fibrinogen von der Temperatur darstellen, und die Kurven der Abhängigkeit des Gerinnungsvermögens des Thrombins von der Temperatur, so ergibt sich unschwer eine Erklärung für den Verlauf der ersteren Kurve. In der Mischung Thrombin-Fibrinogenlösung nimmt zwar mit steigender Temperatur, entsprechend der Temperaturabhängigkeit chemischer Prozesse, die Geschwindigkeit der Gerinnung zu, aber diese Geschwindigkeitszunahme wird mehr und mehr gehemmt durch einen gleichzeitig verlaufenden zweiten Prozeß, nämlich der Abnahme der Gerinnungskraft des Thrombins selbst unter dem Einflusse der Temperatur. Der eigentümliche Verlauf der Kurve, die die Abhängigkeit der Gerinnungsgeschwindigkeit von der Temperatur wiedergibt, erklärt sich vollständig aus den beiden von mir nachgewiesenen Prozessen. Es erscheint mir nicht ohne Interese, daß es jetzt gelungen ist, den scheinbar einfachen Vorgang der Gerinnung experimentell als aus zwei Prozessen bestehend nachzuweisen, wie dies schon früher von anderer Seite vermutet worden ist. Es sei hierbei ganz offen gelassen, ob es sich nicht um noch mehr als zwei Prozesse handelt, eine Vermutung, die ich nicht diskutieren will, weil vorläufig experimentelle Grundlagen ganz fehlen. Es fragt sich, welches die Natur der zwei Vorgänge ist. Es braucht wohl nicht bezweifelt zu werden, daß im herkömmlichen Sinne des Wortes der eine Prozeß eine chemische Reaktion ist, dessen Reaktionsgeschwindigkeit von der Temperatur abhängt. Der andere Prozeß, der in einer Abnahme der Gerinnungskraft des Thrombins selbst mit der Temperatur besteht, bedarf zu seiner Erklärung wohl in erster Linie der Berücksichtigung der Tatsache, daß die Schwächung schon bei sehr niederen Tempera-

turen auftritt. Als nächstliegende Annahme ergibt sich diejenige eines Adsorptionsprozesses, denn wir wissen, daß die Adsorption selbst bei tiefen Temperaturen sehr merklich ist. Das Thrombin verliert seine Wirkung ganz, wenn man es über 55° erwärmt. Dieser Befund stimmt mit demjenigen von Mallenby[1]) und Collingwood[2]) überein. Sie beobachteten, daß das Thrombin durch Erhitzen bis auf 50 bis 60° zerstört wird.

Wir haben (Tabelle XII und XIV) festgestellt, daß die koagulierende Kraft des Knochenmarkthrombins von der Temperatur beeinflußt wird. Werden nun diese durch Temperatur wenig wirksam gemachten Knochenmarkthrombine mittels besonderer Behandlung wieder in einen stark wirksamen Zustand umgewandelt? Wie schon A. Schmidt[3]) durch eine Behandlung Metathrombin in Thrombin umgewandelt hat, verfahren wir auch hier in folgender Weise:

Je 1,0 ccm Knochenmark-Ringerextrakt wird in Reagensgläschen bei verschiedenen Temperaturen (10 bis 50°) 20 Minuten lang eingestellt. Nun werden diese durch Erwärmen auf 10 bis 50° wenig wirksam gewordenen Knochenmarkextrakte einerseits mit derselben Quantität $^n/_{10}$-NaOH versetzt. Die Mischung wird bei Zimmertemperatur 15 Minuten lang stehen gelassen und später mit $^n/_{10}$-HCl zurückneutralisiert, dann bis auf ihre ursprüngliche Menge abpipettiert. Nach Zusatz von 0,5 ccm Fibrinogenlösung werden diese Reagensgläschen wieder bei Zimmertemperatur stehen gelassen; alsdann kontrolliert man den Zeitpunkt, wo die Gerinnung eingetreten ist. Anderseits haben wir zur Kontrolluntersuchung die Gerinnungszeit des durch Erwärmen auf 10 bis 50° wenig wirksam gewordenen Knochenmarkextraktes bei Zusatz von 0,5 ccm Fibrinogenlösung bestimmt. Also haben wir einerseits die Gerinnungszeit des inaktivierten und anderseits diejenige des aktivierten Knochenmarkextraktes untersucht. Um die Verhältnisse zwischen Knochenmark und Blutserum zu erkennen, wurden dieselben Versuche unter ganz gleichen Bedingungen beim Blutserum ausgeführt.

---

[1]) Mallenby, Amer. Journ. of Physiol. 38, 28, 1909.

[2]) Collingwood, Amer. Journ. of Physiol. 47, 44, 1913/14.

[3]) A. Schmidt, Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden, 6, 274, 1911.

Tabelle XV. Protokollnummer LXI. D. (26. VII. 1917).

In Gläschen Nr.	Geprüfte Temperatur °	Geronnen nach			
		Knochenmarkextrakt		Blutserum	
		inaktiv. Min.	aktiv. Min.	inaktiv. Min.	aktiv. Min.
1	10	+++ 17	+++ 82	+++ 137	+++ 12
2	21	+++ 21	+++ 98	+++ 152	+++ 17
3	25	+++ 30	+++ 129	+++ 169	+++ 24
4	30	+++ 38	+++ 137	+++ 182	+++ 29
5	35	+++ 47	++ } 360 beobachtet	+++ 209	+++ 43
6	40	+++ 64	++	+++ 235	+++ 62
7	45	+++ 75	+	+++ 251	+++ 91
8	50	+++ 113	+	+++ 281	+++ 118

Bemerkung: 1. Zimmertemperatur 21°. 2. 50% Kalbsknochenmark-Ringerextrakt. 3. Blutserum vom Pferde.

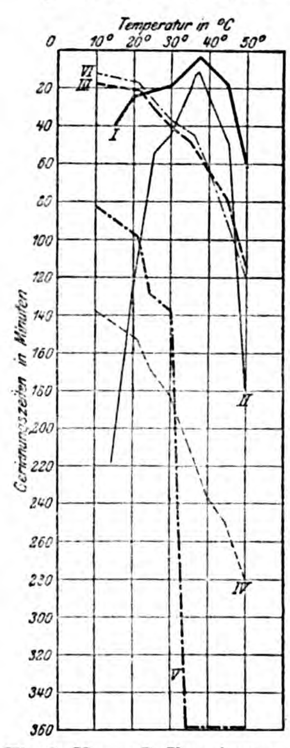


Fig 6. Kurve I: Knochenmarkextrakt + Fibrinogen bei 15 bis 50°. Kurve II: Blutserum + Fibrinogen bei 15 bis 50°. Kurve III: inakt. Knochenmarkextrakt + Fibrinogen. Kurve IV: inakt. Blutserum + Fibrinogen. Kurve V: akt. Knochenmarkextrakt + Fibrinogen. Kurve VI: akt. Blutserum + Fibrinogen.

Wie die obere Tabelle zeigt, konnte das durch Erwärmen wenig wirksam gewordene Knochenmarkextrakt durch die oben erwähnte Behandlung nicht reaktiviert werden, sondern seine Wirkung wurde stark beeinträchtigt, während sich dies beim wenig wirksam gewordenen Blutserum gut bewerkstelligen ließ. Dieses Resultat wird vielleicht erzielt, weil die Eigenschaften des Thrombins im Knochenmark und im Blutserum verschieden sind.

7. Versuche über den Einfluß der Säure und des Alkali auf das Knochenmarkthrombin.

Wie die koagulierende Kraft des Knochenmarkthrombins bei Zusatz von Säure oder Alkali beeinflußt wird, geht aus folgendem Versuch hervor:

Eine Reihe von Reagensgläschen werden mit 1,0 ccm des

Knochenmark-Ringerextraktes und mit 0,5 ccm Fibrinogenlösung gefüllt, darauf die steigenden Mengen (1 bis 5 bis 10 Tropfen) von $^{n}/_{36}$-H_2SO_4 oder $^{n}/_{18}$-H_2SO_4, resp. $^{n}/_{36}$-NaOH oder $^{n}/_{18}$-NaOH hinzugefügt, die Volumendifferenzen mit der 1%igen NaCl-Lösung ausgeglichen. Dann werden alle Gläschen nach Umschütteln bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

Tabelle XVI.

Protokollnummer XLVIII (16. VI. 1917).

In Gläschen Nr.	Mischung	Geronnen nach Min.
1	Knochenmarkextrakt 1,0 ccm + Fibrinogen 0,5 ccm + $^{n}/_{36}$-H_2SO_4 1 Tropfen	+++ 18
2	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + „ 3 „	+++ 20
3	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + „ 5 „	+ 65
4	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + $^{n}/_{36}$-NaOH 1 „	+++ 25
5	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + „ 3 „	+++ 45
6	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + „ 5 „	+++ 51
Kontrolle	„ 1,0 „ + „ 0,5 „	+++ 12

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 21,5°. 2. 50% Kalbsknochenmark-Ringerextrakt.

Tabelle XVII.

Protokollnummer LVI (28. VI. 1917).

In Gläschen Nr.	Mischung	Geronnen nach Min.
1	Knochenmarkextrakt 1,0 ccm + Fibrinogen 0,5 ccm + $^{n}/_{18}$-H_2SO_4 1 Tropfen	++ 17
2	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + „ 3 „	— } 20 Std. beobachtet
3	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + „ 5 „	—
4	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + „ 8 „	—
5	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + „ 10 „	—
6	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + $^{n}/_{18}$-NaOH 1 „	++ 15
7	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + „ 3 „	++ 78
8	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + „ 5 „	— } 20 Std. beobachtet
9	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + „ 8 „	—
10	„ 1,0 „ + „ 0,5 „ + „ 10 „	—
Kontrolle		
11	„ 1,0 „ + „ 0,5 „	++ 10
12	„ 1,0 „ + $^{n}/_{18}$-H_2SO_4 10 Tropfen + 1%ige NaCl-Lösung 0,5 ccm	} keine Veränderungen. (20 Std. beobachtet)
13	Knochenmarkextrakt 1,0 ccm + $^{n}/_{18}$-NaOH 10 Tropfen + 1%ige NaCl-Lösung 0,5 ccm	
14	Fibrinogen 0,5 ccm + $^{n}/_{18}$-H_2SO_4 10 Tropfen + 1%ige NaCl-Lösung 1,0 ccm	
15	„ 0,5 „ + $^{n}/_{18}$-NaOH 10 „ + 1%ige „ 1,0 „	
16	Ringerlösung 0,5 ccm + $^{n}/_{18}$ H_2SO_4 10 Tropf. + 1%ige „ 0,5 „	
17	„ 0,5 „ + $^{n}/_{18}$-NaOH 10 „ + 1%ige „ 0,5 „	

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 21°. 2. 50% Kalbsknochenmark-Ringerextrakt. 3. Nr. 1 bis 5 und Nr. 12 sind weißlich getrübt durch den Säurezusatz. 4. Bei Nr. 2 bis 4 bildete sich einige Stunden nach dem Säurezusatz ein weißlicher Niederschlag.

Aus obigen Ergebnissen geht hervor, daß die koagulierende Kraft des Knochenmarkthrombins durch Zusatz von Säure oder Alkali stark geschädigt wird (viel stärker durch Säure als durch Alkali), und je größer die Menge und die Konzentration der Säure oder des Alkali, desto mehr wird die Gerinnungsgeschwindigkeit verzögert. Infolgedessen ist es auch klar, daß das durch Erwärmen wenig wirksam gewordene Knochenmarkthrombin durch die Behandlung nach A. Schmidt[1]) nicht reaktiviert werden konnte. Dieser Befund stimmt mit demjenigen Collingwoods[2]) überein. Er fand auch, daß das Thrombin durch Säure und Alkali zerstört wird, und zwar wirkt erstere in viel stärkerem Maße als das Alkali.

8. Versuche über die Dauer der gerinnungserregenden Wirkung des Knochenmarkthrombins.

Wenn auch die gerinnungserregende Wirkung des Knochenmarkthrombins entweder chemischer oder fermentativer Natur ist, so wird sie jedoch immer von verschiedenen Faktoren beeinflußt, z. B. von der Temperatur, dem Licht usw.

Wir haben folgendermaßen geprüft:

Man verteilt das Knochenmark-Ringerextrakt gleichen Ursprungs in 3 Portionen und läßt die erste im Eisschrank, die zweite und die mittels schwarzem Papier vor dem Licht ganz geschützte dritte im Arbeitszimmer stehen. Die kleinen Mengen (1,0 ccm) dieser 3 Portionen werden täglich bei Zusatz von Fibrinogenlösung (je 0,5 ccm) zur Untersuchung des Gerinnungseintritts benutzt.

Wir erhalten folgendes Resultat (s. Tab. XVIII):

Wie aus obiger Tabelle ersichtlich, verliert das Knochenmarkthrombin mit der Zeit seine gerinnungserregende Wirkung, somit wirkt dasjenige im Eisschrank nach mehr als 139 Stunden, dasjenige im hellen Zimmer und das vor dem Licht geschützte nach mehr als $72^2/_3$ Stunden nicht mehr. Das im Eisschrank aufbewahrte Knochenmark-Ringerextrakt ist am längsten halt-

---

[1]) A. Schmidt, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 6, 274, 1911.

[2]) Amer. Journ. of Physiol. 47, 44, 1913/14.

Tabelle XVIII.
Protokollnummer XXXIX^{III} (16. bis 23. VI. 1917).

In Gläs-chen Nr.	Datum	Zimmer-tempera-tur °	Knochen-markextrakt	Abgelaufene Zeit nach Darstellung des Knochenmark-extraktes	Geronnen nach Min.
1	16. VI.	21,5	H. M.	30′	+++ 12
2	17. VI.	22,0	H. M.	20 Stunden	+++ 39
			D. M.		+++ 39
			E. M.		+++ 31
3	18. VI.	23,0	H. M.	44 „	+++ 168
			D. M.		+++ 175
			E. M.		+++ 50
4	19. VI.	23,0	H. M.	72²/₃ „	+++ 278
			D. M.		+++ 275
			E. M.		+++ 87
5	20. VI.	23,0	H. M.	91 „	— —
			D. M.		— —
			E. M.		+++ 103
6	21. VI.	23,0	E. M.	115 „	++ 130
7	22. VI.	22,0	E. M.	139 „	++ 152
8	23. VI.	18,0	E. M.	163 „	— —

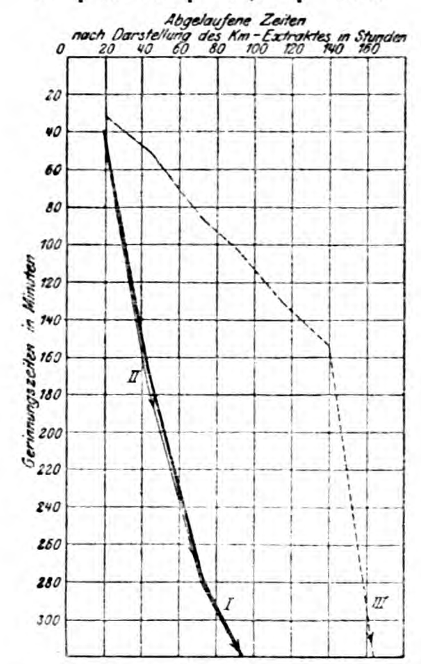


Fig. 7. Kurve I: Knochenmarkextrakt im hellen Zimmer + Fibrinogen. Kurve II: vor Licht geschütztes Knochenmarkextrakt + Fibrinogen. Kurve III: Knochenmarkextrakt im Eisschrank.

Bemerkungen: 1. 50% Kalbsknochenmark-Ringerextrakt. 2. E. M. = Das Knochenmarkextrakt im Eisschrank; D. M. = Vor Licht geschütztes Knochenmarkextrakt; H. M. = Knochenmarkextrakt im hellen Zimmer.

bar, es wirkt noch nach Ablauf von 139 Stunden, nach 163 jedoch nicht mehr. Also kann das Verschwinden der gerinnungserregenden Wirkung des Knochenmarkthrombins von der Temperatur abhängig sein; in der Tat ist das Knochenmark-Ringerextrakt durch Wärme leicht zersetzbar, schon gesetztes, wenig wirksames Extrakt stinkt stark, und das Auftreten der Ninhydrin- und Biuretreaktion

ist ziemlich abgeschwächt. Wir wollen hier die Reaktivierung des schwach wirksamen Knochenmarkthrombins kurz besprechen.

Das ältere Knochenmarkextrakt wirkt schwach oder nicht mehr; läßt sich aber reaktivieren, wenn man es 1 bis 2 Stunden lang mit verdünnter (0,5 $^0/_0$iger) $CaCl_2$-Lösung stehen läßt. (Hier müssen wir besonders betonen, daß die Fibrinogenlösung bei Zusatz von $CaCl_2$ nie geronnen ist.) Doch nach 6 und mehr Tagen nach Herstellung des Extraktes wurde es auch mit $CaCl_2$-Zusatz nicht mehr reaktiviert. Also kann die Reaktivierung des Knochenmark-Ringerextraktes, bei dem die Wirkung schon abgeschwächt ist, nur im Laufe von 6 Tagen nach der Herstellung stattfinden. Nach A. Schmidt[1]) konnte das wenig wirksam gewordene Extrakt mit $^n/_{10}$-NaOH und $^n/_{10}$-HCl nicht gut reaktiviert werden, sondern seine Wirkung wurde stark beeinträchtigt, während sich diese beim wenig wirksam gewordenen Blutserum gut bewerkstelligen ließ. Z. B.:

Tabelle XIX.

Protokollnummer LXIII (25. VII. 1917).

In Gläschen Nr.	Mischung	Geronnen nach Min.
1	Knochenmarkextrakt 1,0 ccm + Fibrinogenlösung 0.5 ccm	+++ 154
2	Blutserum . . . . . 1,0 „ + „ 0,5 „	+++ 102
3	Knochenmarkextrakt 1,0 ccm + 0,5 $^0/_0$ $CaCl_2$ 2 Tropfen + Fibr.-Lös. 0,5 ccm	+++ 111
4	Blutserum . . . . . 1,0 „ + 0,5 $^0/_0$ „ 2 „ + „ 0,5 „	+++ 76
5	Knochenmarkextrakt 1,0 „ + ($^n/_{10}$-NaOH + $^n/_{10}$-HCl) + „ 0,5 „	+++ 215
6	Blutserum . . . . . 1,0 „ + ($^n/_{10}$-NaOH + $^n/_{10}$-HCl) + „ 0,5 „	+++ 7

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 20,5°. 2 50 $^0/_0$ Kalbsknochenmark-Ringerextrakt wurde am 21. VII. dargestellt; damals ist 1,0 ccm Extrakt mit 0,5 ccm Fibrinogenlösung nach 11 Minuten fest geronnen. 3. Blutserum vom Pferde wurde am 21. VII. gewonnen; damals ist 1,0 ccm Serum mit 0,5 ccm Fibrinogenlösung nach 87 Minuten fest geronnen. 4. Knochenmarkextrakt und Blutserum werden bis zu den Versuchen im Eisschrank aufbewahrt.

9. Versuche über Dialyse des Knochenmark-Ringerextraktes.

Um festzustellen, ob das Thrombin im Knochenmark dialysabel ist oder nicht, sind wir folgendermaßen vorgegangen:

---

[1]) A. Schmidt, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 6, 274, 1911.

Kalbsknochenmark wurde mit 2fachem Volumen Ringerlösung 3 Stunden lang extrahiert, dann nach dem Filtrieren durch Gaze zentrifugiert und wieder durch Faltenpapier filtriert. Eine Dialysierhülse (Carl Schleicher & Schüll) wird mit obigem Knochenmarkextrakt („A-Mark") gefüllt und in destilliertes Wasser versenkt. Um leicht diffundieren zu lassen, haben wir das Wasser mit einer besonderen Einrichtung ununterbrochen umgerührt. Die Dialyse wurde bis zum Verschwinden der Chlorsilberreaktion in der Außenflüssigkeit fortgesetzt. Das destillierte Wasser wurde alle 2 Stunden erneuert. Nur die erste Außenflüssigkeit („I. A.-F.") gab eine deutliche Ninhydrin- und Biuretreaktion und hat sich beim Zusatz von Sulfosalicylsäurelösung getrübt. Schließlich wird das in der Dialysierhülse gebliebene Knochenmarkextrakt („B-Mark") und die erste Außenflüssigkeit unter verschiedenen Kombinationen untersucht.

Als Beispiel werden wir den Versuch (Protokollnummer L, am 19. VI. 1917) wie folgt mitteilen:

Tabelle XX.

In Gläschen Nr.	Mischung	Geronnen nach: Min.
1	B-Mark 0,1 ccm + Fibrin.-L. 0,5 ccm	+ 80
2	„ 0,1 „ + „ 0,5 „ + 0,5 % $CaCl_2$ 3 Tropfen	++ 21
3	„ 0,1 „ + „ 0,5 „ + I. A.-F. 0,5 ccm	++ 78
4	„ 0,1 „ + „ 0,5 „ + I. A.-F. 0,5 „ + 0,5 % $CaCl_2$ 3 Trpf.	+++ 17
5	A-Mark 1,0 „ + „ 0,5 „	+++ 12
Kontrolle		
6	Fibrinogenlösung 0,5 ccm + 0,5 % $CaCl_2$ 3 Tropfen	nicht geronnen
7	I. A.-F. . . . . 0,5 „ + Fibrinogenlösung 0,5 ccm	nicht geronnen
8	I. A.-F. . . . . 0,5 „ + „ 0,5 „ + 0,5 % $CaCl_2$ 3 Trpf.	nicht geronnen

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 23°. 2. Die Volumendifferenzen werden mit 1%iger NaCl-Lösung ergänzt.

Wie die Gerinnungszeit bei Nr. 3 und 4 zeigte, wurde die Gerinnung des in der Dialysierhülse gebliebenen Knochenmarkextraktes durch Zusatz der ersten Außenflüssigkeit etwas (2 resp. 3 Minuten) befördert, welche Ninhydrin- und Biuretreaktion gab und sich durch den Zusatz von einigen Tropfen Sulfosalicylsäurelösung getrübt hat. Diese Ergebnisse wurden vielleicht infolge Adsorption des Knochenmarkthrombins durch gewisse

Eiweißstoffe des Knochenmarks, die in die erste Außenflüssigkeit übergegangen sein mögen, hervorgerufen. Aber der Grundstoff des Knochenmarkthrombins ist nicht dialysabel, sondern bleibt in der Hülse. Deshalb waren die Differenzen der Gerinnungszeiten zwischen Nr. 1 und 3 resp. Nr. 2 und 4 klein.

10. Versuche über Lipoide, die aus Knochenmark extrahiert werden.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß das Knochenmark große Mengen Fett enthält, und zwar weist der Fettbestand über 90% auf. Aus diesem Grunde könnte man vielleicht vermuten, daß das Knochenmarkthrombin nichts anderes als ein Lipoid sei.

Um die Lipoide aus dem Knochenmark zu extrahieren, wurden 36,7 g Kalbsknochenmark mit 100 ccm Aceton (wir hätten für diesen Zweck gerne Petroläther benutzt, doch konnten wir ihn leider in diesen Kriegszeiten nicht bekommen) in eine weithalsige Stöpselflasche gebracht. Durch lebhaftes Umschütteln konnte das Aceton auf das Knochenmark besser einwirken. Das Aceton wird ab und zu erneuert. Da dieses Aceton große Mengen Lipoide enthält, so wird es in eine Schale abgegossen. Die mit Aceton gefüllte Schale wurde in ein Wasserbad von 37° gebracht und so das Aceton verjagt. Nach einigen Stunden war es ganz verdunstet, und nur die Lipoide blieben als gelbe Masse am Boden der Schale übrig. Nun wurden die Lipoide mit dem 5fachen Volumen von 0,9%iger NaCl-Lösung extrahiert. Steigende Mengen dieses Lipoidextraktes (0,1 bis 15 ccm) werden mit physiologischer NaCl-Lösung auf 2,0 ccm ergänzt und nun in jedes Gläschen je 0,5 ccm Fibrinogenlösung hinzugefügt. Dann läßt man alle Gläschen nach dem Umschütteln bei Zimmertemperatur stehen. Danach kontrolliert man, ob die Gerinnung eingetreten ist.

Wie Tabelle XXI zeigt, konnten wir entgegen etwaiger Erwartung in keinem Falle eine Gerinnung nachweisen. Nur bei der Kontrolluntersuchung — in Gläschen Nr. 11, also bei Zusatz von Rückstand-NaCl-Extrakt (R. F.) — trat die Gerinnung auf. Nach diesen Ergebnissen ist das Knochenmarkthrombin nicht in der Lipoidfraktion — wenigstens nicht in derjenigen der Acetonlipoide — enthalten, sondern im Rückstand nach Extrahieren des Knochenmarks mit Aceton.

Tabelle XXI.

Protokollnummer LIV (28. VI. 1917).

In Gläschen Nr.	Mischung	Geronnen nach Min.
1	0,1 ccm Lipoidextrakt + 0,5 ccm Fibrinogen-L.	nicht geronnen. (24 Stunden beobachtet.)
2	0,3 „ „ + 0,5 „ „	
3	0,5 „ „ + 0,5 „ „	
4	0,7 „ „ + 0,5 „ „	
5	0,9 „ „ + 0,5 „ „	
6	1,1 „ „ + 0,5 „ „	
7	1,3 „ „ + 0,5 „ „	
8	1,5 „ „ + 0,5 „ „	
zur Kontrolle:		
9	1,5 ccm Lipoidextrakt + 0,5 ccm NaCl-L. (0,9 %)	nicht geronnen. (24 Stunden beobachtet.)
10	1,5 „ „ + 2 Tropf. CaCl2 (0,5 %) + 0,5 ccm Fibrinogen-L.	
11	1,5 „ „ + 0,5 ccm R.F*. + 0,5 ccm Fibrinogen-Lipoide	

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 21°. 2. R.F.* Der Rückstand wurde nach Extrahieren mit Aceton in 10fache 0,9%ige NaCl-Lösung getan und mit dem Mörser zerrieben. Nachher wird mittels Faltenpapier filtriert. Das jetzt gewonnene trübe Filtrat wird mit „R.F." angegeben. Es gab deutliche Ninhydrin- und Biuretreaktionen und wurde bei Zusatz von Sulfosalicylsäurelösung stark getrübt.

11. Versuche über den Rückstand nach Extrahieren des Knochenmarks mit Aceton.

Wie wir schon oben beschrieben haben, wird der Rückstand des Knochenmarks nach dem Abgießen des letzten Acetons zuerst auf Filtrierpapier gepreßt, dann nach möglichster Befreiung von Aceton ausgebreitet und an der Luft getrocknet. Dieser Rückstand wird nachher mit dem Mörser zerrieben und gesiebt, er läßt sich dann als bräunliches Pulver längere Zeit aufbewahren. Wir nennen dieses Pulver „Knochenmarkpulver".

Nun werden 6,0 g Knochenmarkpulver in 30,0 ccm physiologische NaCl-Lösung getan und etwa 18 bis 24 Stunden lang im Zimmer extrahiert, dann filtriert, zuerst durch Gaze, später durch Faltenpapier. Das Filtrat ist trübe und gab deutliche Ninhydrin- und Biuretreaktion und wurde bei Zusatz von Sulfosalicylsäurelösung stark getrübt, es wird mit „I. R.F." bezeichnet. Der neue Rückstand wird in 5 Volumen physiologischer NaCl-Lösung gebracht und nach dem Zerreiben mit dem Mörser filtriert. Das zweite Filtrat („II. R.F.") ist auch

getrübt und gab noch deutliche Ninhydrin- und Biuretreaktion. Es reagiert auch bei Zusatz von Sulfosalicylsäurelösung. Auch diese Prozedur wird wiederholt und man kann III., IV. usw. „R.F.“ gewinnen.

Eine Reihe von Reagensgläschen wird mit absteigenden Mengen (1,5 bis 0,1 ccm) von I. R.F. gefüllt, die Volumendifferenzen mit 0,9 $^0/_0$iger kalkfreier NaCl-Lösung ausgeglichen und in jedes Gläschen je 0,5 ccm Fibrinogenlösung hinzugefügt. Dann werden alle Gläschen nach Umschütteln bei Zimmertemperatur gehalten. Nachher kontrolliert man, ob Gerinnung eingetreten ist. Andererseits haben wir gleichzeitig die Einwirkung von $CaCl_2$ auf R.F. geprüft — also in jedes Gläschen je 3 Tropfen 0,5 $^0/_0$ige $CaCl_2$-Lösung geschüttet und dann diese Gerinnungsintensität mit derjenigen ohne $CaCl_2$-Zusatz verglichen.

Tabelle XXII.

Protokollnummer LIV (28. VI. 1917).

In Gläschen Nr.	Mischung		Geronnen nach: ohne $CaCl_2$ Min.	Geronnen nach: ohne $CaCl_2$ Min.
1	0,1 ccm	(I. R.F.) + 0,5 ccm Fibrinogen-L.	+++ 19	+++ 13
2	0,2 „		+++ 15	+++ 10
3	0,3 „		+++ 13	+++ 9
4	0,4 „		+++ $11^3/_4$	+++ 7
5	0,5 „		+++ 11	+++ 6
6	0,6 „		+++ 9	+++ $5^1/_2$
7	0,7 „		+++ 8	+++ $4^3/_4$
8	0,8 „		+++ 7	+++ 4
9	0,9 „		+++ $6^1/_2$	+++ 3
10	1,0 „		+++ 6	+++ $2^1/_2$
11	1,1 „		+++ 5	+++ $1^3/_4$
12	1,2 „		+++ $3^1/_2$	+++ $^{19}/_{20}$
13	1,3 „		+++ $2^3/_4$	+++ $^{43}/_{60}$
14	1,4 „		+++ 2	+++ $^7/_{15}$
15	1,5 „		+++ $1^1/_2$	+++ $^1/_3$
16	1,5 „	(II. R.F.) + 0,5 ccm Fibrinogen-L.	+++ $3^1/_2$	ohne Versuch.
17	1,5 „	(III. R.F.) + 0,5 ccm Fibrinogen-L.	+++ 7	

Bemerkung: Zimmertemperatur 21°. Das Knochenmarkthrombin ist in diesem Rückstand enthalten, und seine koagulierende Kraft ist intensiv stark im Vergleich mit Knochenmark-Ringerextrakt. Auch in diesem Versuch ist die Gerinnungsgeschwindigkeit des Knochenmarkthrombins dem Gehalt des R.F. überhaupt proportional und unterstützt auch Chlorcalcium die Gerinnung, wie beim Knochenmark-Ringerextrakt.

Das Knochenmarkpulverextrakt wurde auch wie folgt am Kaninchen versucht. Zuerst wird das Knochenmarkpulver-

extrakt zubereitet — also 6 g Knochenmarkpulver werden mit 60 ccm physiologischer NaCl-Lösung 18 Stunden lang im Zimmer extrahiert, dann zuerst durch die Gaze, später durch

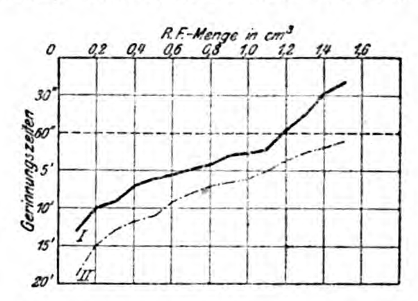


Fig. 8. Kurve I: R.F. + $CaCl_2$ + Fibrinogen. Kurve II: R.F. + Fibrinogen.

Faltenpapier filtriert. Das Filtrat (R. F.) ist trübe und zeigt auch deutliche Ninhydrin- und Biuretreaktion, und es wurde bei Zusatz von Sulfosalicylsäurelösung stark getrübt.

Kaninchen Nr. XI, ♂, 17. VII. 1917. Körpergewicht 2500 g, ohne Narkose.

Eine Kanüle wurde in die A. carotis dextra eingebunden und diente zur Blutdruckmessung. Eine andere in die A. carotis sinistra zur Blutentnahme und eine dritte in die V. jugularis sin. zur Injektion des Knochenmarkpulverextraktes.

In den folgenden 3 Fällen wird beobachtet, nach wieviel Minuten das Blut vollständig gerinnt: 1. 5,0 ccm Blut werden aus der A. carotis sin. entnommen und in 2 Reagensgläser getan. 2. In 2 andere Reagensgläser werden 5,0 ccm Blut mit 1,0 ccm physiologischer NaCl-Lösung vermischt. 3. Schließlich werden noch 2 Reagensgläser mit 5,0 ccm Blut und 1,0 ccm Knochenmarkpulverextrakt (R.F.) gefüllt. Im weiteren wurden 2,0 bzw. 3,0 ccm Knochenmarkpulverextrakt (R.F.) in die V. jugularis injiziert und 5 bzw. 10 Minuten gewartet, dann entnahmen wir 5,0 ccm Blut und füllten damit je 2 Reagensgläser; wir beobachteten, nach wieviel Minuten die vollständige Gerinnung des Blutes eingetreten war. Das Resultat ergab (s. Tab. XXIII):

Die Wirkung des Knochenmarkpulverextraktes auf das Blut ist nicht so prompt, wie wir erwartet hatten, doch hat sich die Gerinnungszeit des Blutes nach der intravenösen In-

Tabelle XXIII.

Protokollnummer LIX[I] (17. VII. 1917).

In Gläschen Nr.	Blut	Geronnen nach einzeln Std. Min	Geronnen nach Durchschnitt Std. Min.	Mittlerer Blutdruck mm Hg
	vor der Injektion			103 (v. d. Blutentn.)
1	5,0 ccm Blut	2 19	2 07	50 (nach II. „)
2	5,0 „ „	1 54		
3	5,0 „ „ + 1,0 ccm NaCl-L. (0,9%)	2 37	2 40	24 („ IV. „)
4	5,0 „ „ + 1,0 „ „ (0,9%)	2 42		
5	5,0 „ „ + 1 „ R. F. . . .	2 21	2 28	17 („ VI. „)
6	5,0 „ „ + 1 „ „ . . .	2 17		
	I. intravenöse Injektion (2,0 ccm R. F.)			42 (nach I. Injektion)
7	5,0 ccm Blut (5 Min. nach I. Injektion)	1 55	1 38	38 (n. VII. Blutentn.)
8	5,0 „ „ (10 „ „ „)	1 21		17 („ VII. „)
	II. intravenöse Injektion (3,0 ccm R. F.)			39 (nach II. Injektion)
9	5,0 ccm Blut (5 Min. nach II. Injektion)	1 41	1 45	22 (n. IX. Blutentn.)
10	5,0 „ „ (10 „ „ „ „)	1 49		21 („ X. „)

Bemerkungen: Zimmertemperatur 19,5°.

jektion um 29 bzw. 22 Sekunden verkürzt, während in vitro die Gerinnungszeit der Mischung von Blut und Knochenmarkpulverextrakt um 21 Sekunden verlängert wurde.

Zusammenfassung.

Die Ergebnisse des ersten Abschnittes meiner Arbeit lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Im Knochenmark frisch getöteter Tiere ist eine gerinnungserregende Substanz vorhanden, die sich im Knochenmark mit $CaCl_2$ verbinden kann, und in einer aktiven Form auftritt, die im Knochenmark ziemlich reichlich enthalten ist, also enthält letzteres fertiges Thrombin, das durch Zusatz zu reiner Fibrinogenlösung oder zu Magnesiumsulfatplasma nachgewiesen werden kann. Das Knochenmark-Ringer- oder Kochsalzextrakt, in welchem Thrombin vorhanden ist, ergab Ninhydrin und Biuretreaktion und trübte sich durch den Zusatz von einigen Tropfen Sulfosalizylsäurelösung sogar stark.

2. Der Thrombingehalt im Knochenmarkextrakt ist um so größer, je größer die Menge des angewandten Knochenmarks.

Der Thrombingehalt im Knochenmark ist je nach den Tierarten variabel. Vergleichende Untersuchungen am Kalb, am Pferd, Hund, Kaninchen und Schwein ergaben beim letzteren den schwächsten Thrombingehalt.

3. Die gerinnungserregende Wirkung des Knochenmarkthrombins im gleichen Tiere ist viel stärker als die des Blutserums.

4. Durch Koagulenzusatz (das Koagulen Kocher-Fonio soll Thrombokinase sein) wurde die gerinnungserregende Wirkung des Knochenmarkthrombins etwas abgeschwächt; diejenige des Blutserums bei Koagulenzusatz im Gegenteil etwas verstärkt.

5. Die gerinnungserregende Wirkung des Knochenmarkthrombins wird durch Erwärmen herabgesetzt, und das Thrombin verliert seine Wirkung ganz, wenn man es über 55^0 erwärmt. Das durch Erwärmen weniger wirksam gewordene Knochenmarkthrombin kann durch Zusatz von $^n/_{10}$-NaOH und $^n/_{10}$-HCl nicht mehr reaktiviert werden, sondern seine Wirkung wurde stark beeinträchtigt, während sich dies beim wenig wirksam gewordenen Blutserum gut bewerkstelligen ließ. Auch wird die gerinnungserregende Wirkung des Knochenmarkthrombins durch Zusatz von Säure oder Alkali stark geschädigt, und je größer die Menge und die Konzentration der Säure oder des Alkali, desto mehr wird die Gerinnungsgeschwindigkeit verzögert.

6. Die gerinnungserregende Wirkung des Knochenmarkthrombins verschwindet allmählich. Es wirkt das im Eisschrank gehaltene nach mehr als 139 Stunden, dasjenige im hellen Zimmer und das vor dem Licht geschützte nach mehr als 72$^2/_3$ Stunden nicht mehr. Also kann das Verschwinden der gerinnungserregenden Wirkung des Knochenmarkthrombins von der Temperatur und der Zeit abhängig sein.

7. Steigt die Menge der Fibrinogenlösung bei gleichbleibender Knochenmarkthrombinmenge, so wird dadurch der Ablauf der Gerinnung verzögert.

8. Das Knochenmarkthrombin wird vom $CaCl_2$ stark beeinflußt; die Einwirkung des $CaCl_2$ auf Knochenmarkthrombin ist um so größer, je kleiner die Menge des Knochenmarkthrombins.

9. Der Grundstoff des Knochenmarkthrombins ist nicht dialysabel, doch beförderte die eiweißhaltige, erste Außenflüssigkeit, die Ninhydrin- und Biuretreaktion ergab, die Gerinnung durch das in der Dialysierhülse gebliebene Thrombin. Vielleicht wurden diese Ergebnisse infolge Adsorption des

Knochenmarkthrombins durch gewisse Eiweißstoffe des Knochenmarks, die in die erste, eiweißhaltige Außenflüssigkeit übergegangen sein mögen, hervorgerufen.

10. Die Kurve der Abhängigkeit der Gerinnung von Fibrinogenlösung unter dem Einfluß von Knochenmarkthrombin von der Temperatur verläuft wie die bekannte Kurve, die die Abhängigkeit der Blutgerinnung unter dem Einfluß von Thrombin wiedergibt. Sie steigt zuerst steil an, dann sehr viel flacher, hat bei 37° ihr Maximum, um dann rasch abzufallen. Unter 15° und über 45° verläuft die Gerinnung sehr langsam.

11. Wird Knochenmarkthrombin allein je steigenden Temperaturen ausgesetzt und dann die Gerinnung der Fibrinogen-Knochenmarkmischung bei stets gleichbleibender Temperatur beobachtet, so kann man feststellen, daß schon die Einwirkung relativ niedriger Temperaturen das Vermögen des Knochenmarkthrombins, Gerinnung zu erzeugen, stark herabsetzt. Aus dieser Tatsache erklärt sich der Verlauf der Kurve, die die Abhängigkeit der Gerinnungsgeschwindigkeit von der Temperatur darstellt. Es laufen zwei Prozesse nebeneinander her; die Temperatur beschleunigt erstens die Reaktion Fibrinogen + Thrombin → Fibrin, daher der steile Anstieg im Anfang Zweitens vermindert die Temperatur die Wirkungsstärke des Thrombins sehr früh, vermutlich infolge der Beschleunigung der Adsorption des Thrombins an Kolloide, wodurch die Geschwindigkeit des Gerinnungsvorganges verzögert wird.

12. Die Gerinnungsintensität der Mischung von Knochenmark- bzw. Blutserumthrombin und Fibrinogenlösung bei 37° hängt von den Mengen dieses Thrombins ab, und diejenige des Knochenmarkthrombins mit Fibrinogenlösung ist stärker als die mit Fibrinogenlösung des Serumthrombins.

13. Das ältere Knochenmark- bzw. Serumthrombin wirkt schwach oder nicht mehr, es läßt sich aber vorübergehend reaktivieren, wenn man es einige Stunden lang mit verdünnter $CaCl_2$-Lösung stehen läßt. Doch nach 6 und mehr Tagen nach Herstellung des Knochenmarkextraktes oder nach der Serumgewinnung wird es auch durch $CaCl_2$-Zusatz nicht mehr reaktiviert. Das ältere, schwach wirksame Knochenmarkthrombin kann mit $^n/_{10}$-NaOH und $^n/_{10}$-HCl nicht reaktiviert werden, sondern seine Wirkung wurde durch diese Behandlung stark

beeinträchtigt, während sich dies beim älteren, wenig wirksamen Blutserum gut ausführen ließ.

14. Das Knochenmarkthrombin ist im Rückstand nach dem Extrahieren des Knochenmarkes mit Aceton in großen Mengen vorhanden. Es ist nicht in der Fraktion der mit Aceton extrahierbaren Lipoide vorhanden. Das NaCl-Extrakt dieses thrombinhaltigen Rückstandes wirkt nicht prompt auf das Blut in vitro, doch nimmt die Gerinnungsgeschwindigkeit des Blutes nach der intravenösen Injektion dieses Extraktes beim Tiere zu.

15. Die Eigenschaften des Thrombins im Knochenmark und im Blutserum sind einander wesentlich ähnlich, doch nicht in allen Einzelheiten. Wir können vermuten, daß das Knochenmarkthrombin sich vom Blutserumthrombin etwas unterscheidet.

II. Kapitel.

Über das Knochenmarkthrombin bei schilddrüsenlosen und milzlosen Tieren; ein Beitrag zu den Beziehungen zwischen Schilddrüse, Milz und Knochenmark.

Einleitung.

Die vorausgegangenen Untersuchungen waren als Vorarbeit notwendig, um Probleme in Angriff zu nehmen, die an voraufgehende Untersuchungen von Sollberger[1]) und Marcel Dubois[2]) aus dem Berner physiologischen Institut anknüpfen. Beide Forscher hatten zeigen können, daß ein Zusammenwirken zwischen Milz, Schilddrüse und Knochenmark stattfindet. In der zuletzt genannten Arbeit von Dubois war der Nachweis geliefert worden, daß die Schilddrüse auf das Knochenmark, insoweit dasselbe ein Organ für die Blutbildung ist, im Sinne der Förderung, die Milz hingegen im Sinne einer Hemmung wirkt. Ganz neuerdings hat H. Streuli, in einer im Druck befindlichen Arbeit, ähnliche antagonistische Wirkungen zwischen Milz und Schilddrüse feststellen können, die sich allerdings in erster Linie auf den respiratorischen Stoff-

---

[1]) Asher und Sollberger, diese Zeitschr. 55, 13.

[2]) Marcel Dubois, diese Zeitschr. 82, 141.

wechsel bezogen. Man wird nicht falsch gehen, wenn man an Verknüpfungen mit den Tatsachen der vorgenannten Reihe denkt. Was nun die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Knochen anbelangt, so sind dieselben, wenn auch in etwas anderer Weise, schon längst bei der Erforschung der Schilddrüsenfunktionen berücksichtigt worden. Die älteren einschlägigen Tatsachen und die Literatur dieses Gegenstandes finden sich in Biedls Lehrbuch der inneren Sekretion. Da nun durch Howells und meine vorausgegangenen Untersuchungen erkannt worden ist, daß zu den Funktionen des Knochenmarks die Bildung von Thrombin gehört, erschien es mit Rücksicht auf die genannten Erfahrungen im Berner physiologischen Institut sowie mit Rücksicht auf die älteren Tatsachen nicht uninteressant, zu untersuchen, ob auch nicht diese Funktionen des Knochens unter dem Einflusse der Schilddrüse und der Milz stände.

Gewissermaßen zu den Vorarbeiten der nachfolgenden Untersuchungen können die wichtigen Arbeiten von Kottmann[1]) über die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Blutgerinnung gerechnet werden. Er hat gefunden, daß nach der Thyreoparathyreoidektomie sich der Gerinnungsverlauf bei Hunden stark verzögerte, dann aber eine auffallend starke Koagulabildung sich konstatieren ließ. Er schreibt die verlangsamte Gerinnung dem Funktionsausfall der Epithelkörperchen zu und bringt die Stärke der Koagula mit den Folgen der Thyreoidektomie in Zusammenhang. Während so durch Kottmanns Arbeit wenigstens Beziehungen zwischen Schilddrüse und Blutgerinnung hergestellt sind, scheint, soweit mir die Literatur zugänglich war, noch keine Angabe vorzuliegen, welche gestattete, die Blutgerinnung mit der Milz in Verbindung zu bringen.

Wenn ich die Beziehung zwischen Schilddrüse und Thrombingehalt des Knochenmarks, sowie zwischen Milz und diesem Thrombingehalt untersuche, so gilt diese Untersuchung in erster Linie der weiteren Aufklärung des Zusammenwirkens von Schilddrüse, Milz und Knochenmark. Die Untersuchung sollte aber gleichzeitig dazu dienen, wenn möglich neue Tat-

---

[1]) Kottmann, Zeitschr. f. klin. Med. 71, 361, 1910.

sachen für die Lehre von der Gerinnung zu finden. Ich habe es deshalb auch nicht unterlassen, die Beziehungen zwischen Schilddrüse, beziehentlich Milz und dem Thrombingehalt des Blutserums zu prüfen.

Eigene Versuche.

1. Versuche über die Beziehung zwischen der Schilddrüse und dem Thrombingehalt im Knochenmark resp. im Blutserum. Sämtliche Versuche wurden an Kaninchen vorgenommen. Die Thyreoidektomie geschah nach der Regel der Chirurgie ganz aseptisch. Eine halbe Stunde vor der Operation wurden die Tiere mit einer subcutanen Injektion von Morphiumlösung, eventuell auch später während der Operation mit Äther narkotisiert. Die Entfernung der Schilddrüse wurde nach der im Berner physiologischen Institut üblichen Weise vorgenommen. Die Wunde heilte stets per primam, und es waren keinerlei Störungen an den Tieren zu beobachten. Die Tiere wurden verschieden lange Zeit nach der Entfernung der Schilddrüse durch Verbluten aus der A. carotis getötet, nämlich 10, 16 und 20 Tage nach der Operation. Man läßt das Blut in üblicher Weise spontan gerinnen. Sobald das Serum ausgepreßt ist, wird dieses abpipettiert, dann zentrifugiert. Dieses ganz frische Serum wird für Versuche benutzt. Das Knochenmark wurde aus der Tibia und dem Femur von allen 4 Beinen entnommen und es wird wie gewöhnlich mit Ringerlösung 3 Stunden lang im Zimmer extrahiert, dann nach dem Filtrieren durch Gaze 15 Minuten lang zentrifugiert, später abermals durch Faltenpapier filtriert. Sobald das Filtrat — also Knochenmark-Ringerextrakt — zubereitet ist, wird es für die Versuche benutzt. Die Zubereitung des Knochenmarkextraktes und die Gewinnung des Blutserums sollen möglichst gleichzeitig ausgeführt werden. Um den Thrombingehalt im Knochenmark und im Serum miteinander zu vergleichen, wurde er wie beim 2. Versuch des vorhergehenden Kapitels quantitativ bestimmt. Für die Kontrolluntersuchung haben wir gleichzeitig ein ganz normales Kaninchen in gleicher Weise getötet, und das Knochenmark, sowie das Blutserum dieses Tieres wurden für Versuche benutzt.

Thyreoidektomiertes Kaninchen Nr. II, ♀.

Körpergewicht 2,150 g. Thyreoidektomie am 4. V. 1917. Versuch (Protokollnummer XXVI und XXVII) am 14. V. 1917 (10 Tage nach der Thyreoidektomie).

(Weil bei diesem Versuch die Kontrolluntersuchung fehlt, so mußten wir den am 27. IV. 1917 vorgenommenen Versuch (Protokollnummer XI und XII) mit Blutserum und Knochenmarkextrakt des normalen Kaninchens als Ersatz der Kontrolluntersuchung benutzen. Normales Kaninchen Nr. II, ♂. Körpergewicht 1800 g.)

Tabelle I^{II}.

In Gläschen Nr.	Serum oder Knochenmarkextrakt ccm	Geronnen nach: normales Kaninchen, Serum Min.	Geronnen nach: normales Kaninchen, Knochenmarkextrakt Min.	Geronnen nach: thyreoid. Kaninchen, Serum Min.	Geronnen nach: thyreoid. Kaninchen, Knochenmarkextrakt Min.	Differenzen: Serum Min.	Differenzen: Knochenmarkextrakt Min.
1	0,1 } + 0,5 ccm Fibrinogenlösung	+ } beobachtet 245	+ } beobacht. 250	+ } beobacht. 207	+ 127	— 38	— 123
2	0,2	+	+	+	+ 118	— 38	— 132
3	0,3	+	+++ 232	+++ 189	+++ 85	— 56	— 147
4	0,4	+	+++ 104	+++ 187	+++ 79	— 58	— 25
5	0,5	+	+++ 86	+++ 184	+++ 70	— 61	— 16
6	0,6	+	+++ 75	+++ 18	+++ 55	— 65	— 20
7	0,7	+++ 238	+++ 68	+++ 175	+++ 44	— 63	— 24
8	0,8	+++ 230	+++ 65	+++ 163	+++ 42	— 67	— 23
9	0,9	+++ 224	+++ 63	+++ 159	+++ 39	— 65	— 24
10	1,0	+++ 210	+++ 61	+++ 152	+++ 36	— 58	— 25
11	1,1	+++ 187	+++ 57	+++ 148	+++ 33	— 39	— 24
12	1,2	+++ 170	+++ 53	+++ 143	+++ 31	— 22	— 22
13	1,3	+++ 164	+++ 50	+++ 135	+++ 27	— 29	— 23
14	1,4	+++ 156	+++ 47	+++ 126	+++ 22	— 30	— 25
15	1,5	+++ 138	+++ 45	+++ 120	+++ 19	— 18	— 26

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 21°. 2. 13 % Knochenmark-Ringerextrakt vom normalen und thyreoidektomierten Kaninchen. 3. Die Volumendifferenzen werden mit 1 %iger NaCl-Lösung ergänzt.

Wie aus dieser Tabelle I^{II} ersichtlich ist, ist die Gerinnungsgeschwindigkeit des Knochenmarkextraktes und des Blutserums des thyreoidektomierten Kaninchens eine raschere als diejenige des normalen Kaninchens, — also nimmt der Thrombingehalt im Knochenmark und im Serum des Tieres durch Entfernung der Schilddrüse zu.

Gleiche Resultate erhielt ich bei folgenden zwei Versuchen:

Thyreoidektomiertes Kaninchen Nr. III, ♂.

Körpergewicht 1570 g. Thyreoidektomie am 23. V. 1917. Versuch (Protokollnummer XLV) am 8. VI. 1917 (16 Tage nach der Thyreoidektomie).

Kontrollkaninchen Nr. III′, ♀.

Körpergewicht 2050 g. Versuch (Protokollnummer XLV) am 8. VI. 1917.

Tabelle II^II.

In Gläschen Nr.	Serum oder Knochenmarkextrakt ccm (+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung)	Geronnen nach normales Kaninchen Serum Min.	Geronnen nach normales Kaninchen Knochenmarkextrakt Min.	Geronnen nach thyreoid. Kaninchen Serum Min.	Geronnen nach thyreoid. Kaninchen Knochenmarkextrakt Min.	Differenzen Serum Min.	Differenzen Knochenmarkextrakt Min.
1	0,1	+++ 212	+++ 193	+++ 182	+++ 136	− 30	− 57
2	0,2	+++ 203	+++ 181	+++ 178	+++ 128	− 25	− 53
3	0,3	+++ 194	+++ 175	+++ 167	+++ 117	− 27	− 58
4	0,4	+++ 185	+++ 161	+++ 162	+++ 103	− 23	− 58
5	0,5	+++ 178	+++ 152	+++ 156	+++ 92	− 22	− 60
6	0,6	+++ 173	+++ 141	+++ 150	+++ 87	− 23	− 54
7	0,7	+++ 165	+++ 130	+++ 145	+++ 82	− 20	− 48
8	0,8	+++ 162	+++ 123	+++ 142	+++ 78	− 20	− 45
9	0,9	+++ 158	+++ 119	+++ 138	+++ 74	− 20	− 45
10	1,0	+++ 154	+++ 113	+++ 135	+++ 69	− 19	− 44
11	1,1	+++ 149	+++ 108	+++ 132	+++ 66	− 17	− 42
12	1,2	+++ 145	+++ 102	+++ 129	+++ 62	− 16	− 40
13	1,3	+++ 143	+++ 96	+++ 126	+++ 59	− 17	− 37
14	1,4	+++ 138	+++ 89	+++ 124	+++ 58	− 14	− 31
15	1,5	+++ 134	+++ 83	+++ 123	+++ 57	− 11	− 26

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 22,5°. 2. 13% Knochenmark-Ringerextrakt vom thyreoidektomierten und normalen Kaninchen. 3. Die Volumendifferenzen werden mit 1%iger NaCl-Lösung ergänzt.

Thyreoidektomiertes Kaninchen Nr. I, ♀.

Körpergewicht 2100 g. Thyreoidektomie am 4. V. 1917. Versuch (Protokollnummer XXXII) am 24. V. 1917 (20 Tage nach der Thyreoidektomie).

Kontrollkaninchen Nr. I′, ♂.

Körpergewicht 1,850 g. Versuch (Protokollnummer XXXII) am 24. V. 1917.

Tabelle III[II].

In Gläschen Nr.	Serum oder Knochenmarkextrakt ccm		Geronnen nach normales Kaninchen Serum Min.	Geronnen nach normales Kaninchen Knochenmarkextrakt Min.	Geronnen nach thyreoid. Kaninchen Serum Min.	Geronnen nach thyreoid. Kaninchen Knochenmarkextrakt Min.	Differenzen Serum Min.	Differenzen Knochenmarkextrakt Min.
1	0,1	+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung	+++ 184	+++ 153	+++ 172	+++ 123	− 12	− 30
2	0,2		+++ 172	+++ 127	+++ 165	+++ 91	− 7	− 36
3	0,3		+++ 167	+++ 119	+++ 157	+++ 80	− 10	− 39
4	0,4		+++ 163	+++ 113	+++ 149	+++ 72	− 24	− 41
5	0,5		+++ 159	+++ 102	+++ 148	+++ 59	− 11	− 43
6	0,6		+++ 155	+++ 97	+++ 144	+++ 56	− 11	− 41
7	0,7		+++ 151	+++ 89	+++ 131	+++ 52	− 20	− 37
8	0,8		+++ 146	+++ 83	+++ 125	+++ 47	− 21	− 36
9	0,9		+++ 141	+++ 76	+++ 117	+++ 43	− 24	− 33
10	1,0		+++ 138	+++ 71	+++ 113	+++ 40	− 25	− 31
11	1,1		+++ 133	+++ 67	+++ 110	+++ 39	− 23	− 28
12	1,2		+++ 129	+++ 64	+++ 108	+++ 36	− 21	− 28
13	1,3		+++ 127	+++ 60	+++ 103	+++ 34	− 24	− 26
14	1,4		+++ 124	+++ 58	+++ 98	+++ 30	− 26	− 28
15	1,5		+++ 123	+++ 55	+++ 95	+++ 28	− 28	− 27

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 20°. 2. 13% Knochenmark-Ringerextrakt vom thyreoidektomierten und normalen Kaninchen. 3. Die Volumendiffeпenzen werden mit 1%iger NaCl-Lösung ergänzt.

Es hat sich also aus diesen Versuchen ergeben, daß das Knochenmark der thyreoidektomierten Kaninchen einen vermehrten Thrombingehalt gegenüber Normaltieren besitzt. Gleichzeitig haben unsere Versuche in voller Bestätigung von Kottmanns Arbeiten ergeben, daß auch im Blutserum der thyreoidektomierten Tiere mehr Thrombin vorhanden ist als in denjenigen normaler Tiere. Das Resultat, das wir mit dem Knochenmark erhielten, war uns im Anfang ein unerwartetes. Ich hatte nämlich bei der Inangriffnahme meiner Versuche die Voraussetzung gemacht, daß die Thrombinbildung eine Funktion des Knochenmarks sei, und im Hinblicke hierauf war die weitere Annahme nicht ungerechtfertigt, daß in Analogie mit andern Beobachtungen das Fehlen der Schilddrüse vermindernd auf die Thrombinbildung wirken müsse. Das ist nun laut Aussage meiner Versuche nicht der Fall. Es wird nicht ganz leicht sein, dieses Resultat zu erklären. Möglicherweise steht der vermehrte Thrombingehalt im Knochenmark bei schilddrüsenlosen Tieren mit der größern Stoffwechselträgheit

derselben im Zusammenhang. Der Stoffaustausch zwischen Gewebe und Blut ist bei schilddrüsenlosen Lebewesen merklich verlangsamt, wie das neuerdings durch schöne Untersuchungen von Eppinger[1]) bewiesen worden ist. Man braucht nur anzunehmen, daß das im Knochenmark gebildete Thrombin wegen der Trägheit des Stoffaustausches zwischen Gewebe und Blut sich anhäufte, um die von mir beobachteten Tatsachen zu erklären. Es könnte ganz gut die von den Zellen gebildete Thrombinmenge geringer als in der Norm sein, oder vielleicht ebenso groß. Nun steht allerdings dieser Erklärungsart, die ich möglicherweise für richtig halte, ein sehr ernstes Bedenken entgegen, nämlich die Tatsache, daß im Serum gleichfalls der Thrombingehalt gesteigert ist. Diese Tatsache deutet darauf hin, daß doch mehr Prothrombin ins Blut gelangt. Ich sehe vorläufig keinen zwingenden Beweis gegen das Gewicht dieses Einwandes gegen die von mir soeben gegebene Erklärung.

2. Versuche über die Beziehung zwischen Milz und Thrombingehalt im Knochenmark resp. im Blutserum. Um die Beziehung zwischen der Milz und dem Thrombingehalt im Knochenmark zu untersuchen, haben wir sämtliche Versuche wieder am Kaninchen ausgeführt. Narkose gleichwie bei der Exstirpation der Schilddrüse. 3 Kaninchen wurden zu diesem Zweck nach der Regel der Chirurgie unter vollständiger Asepsis laparotomiert und dann die Milz ganz weggenommen. Keine Blutung bei der Operation und auch keine Nachblutung. Die Wunde heilte stets per primam. Durch Verbluten aus der A. carotis wurden die Tiere nach verschiedenen Tagen nach der Entfernung der Milz getötet, nämlich 7, 8 und 13 Tage nach der Operation. Das Blutserum und das Knochenmark werden in ganz gleicher Weise, wie bei Versuchen mit thyreoidektomierten Kaninchen entnommen und zu Versuchen benutzt. Auch hier haben wir immer ein ganz normales Kaninchen gleichzeitig und in gleicher Weise getötet und das Knochenmark sowie das Blutserum für die Kontrolluntersuchung benutzt.

---

[1]) Eppinger, Zur Pathologie und Therapie des menschlichen Ödems, Berlin, Julius Springer, 1917.

Splenektomiertes Kaninchen Nr. IV, ♂.

Körpergewicht 1850 g. Splenektomie am 13. VI. 1917. Versuch (Protokollnnmmer LII) am 20. VI. 1917 (7 Tage nach der Splenektomie).

Kontrollkaninchen Nr. IV, ♂.

Körpergewicht 1640 g. Versuch (Protokollnummer LII) am 20. VI. 1917.

Tabelle IV[II].

In Gläs-chen	Serum oder Knochen-mark-extrakt		Geronnen nach				Differenzen	
			normales Kaninchen		splenekt. Kaninchen			
			Serum	Knochen-mark-extrakt	Serum	Knochen-mark-extrakt	Serum	Knochen-mark-extrakt
Nr.	ccm		Min.	Min.	Min.	Min	Min.	Min.
1	0,1	+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung	+++ 215	+++ 236	+++ 265	+++ 218	+ 50	− 18
2	0,2		+++ 191	+++ 200	+++ 247	+++ 175	+ 56	− 25
3	0,3		+++ 176	+++ 191	+++ 229	+++ 154	+ 53	− 37
4	0,4		+++ 160	+++ 166	+++ 213	+++ 138	+ 53	− 28
5	0,5		+++ 155	+++ 152	+++ 201	+++ 124	+ 46	− 28
6	0,6		+++ 152	+++ 137	+++ 198	+++ 112	+ 46	− 25
7	0,7		+++ 151	+++ 121	+++ 189	+++ 90	+ 38	− 31
8	0,8		+++ 149	+++ 94	+++ 176	+++ 72	+ 27	− 22
9	0,9		+++ 147	+++ 74	+++ 174	+++ 55	+ 27	− 19
10	1,0		+++ 144	+++ 60	+++ 172	+++ 46	+ 28	− 14
11	1,1		+++ 140	+++ 54	+++ 170	+++ 39	+ 30	− 15
12	1,2		+++ 137	+++ 50	+++ 167	+++ 34	+ 30	− 16
13	1,3		+++ 135	+++ 43	+++ 165	+++ 30	+ 30	− 13
14	1,4		+++ 133	+++ 41	+++ 161	+++ 27	+ 28	− 14
15	1,5		+++ 130	+++ 36	+++ 158	+++ 24	+ 28	− 12

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 23°. 2. 16% Knochenmark-Ringerextrakt vom normalen und milz'osen Kaninchen. 3. Die Volumendifferenzen werden mit 1%iger NaCl-Lösung ergänzt.

Splenektomiertes Kaninchen Nr. VII, ♂.

Körpergewicht 1750 g. Splenektomie am 28. VI. 1917 (8 Tage nach der Splenektomie).

Kontrollkaninchen Nr. VII', ♂.

Körpergewicht 1640 g. Versuch (Protokollnummer LVIII am 6. VII. 1917).

Tabelle V^{II}.

In Gläschen Nr.	Serum oder Knochenmarkextrakt ccm		Geronnen nach normales Kaninchen Serum Min.	normales Kaninchen Knochenmarkextrakt Min.	splenekt. Kaninchen Serum Min.	splenekt. Kaninchen Knochenmarkextrakt Min.	Differenzen Serum Min.	Differenzen Knochenmarkextrakt Min.
1	0,1	+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung	+++ 211	+++ 128	+++ 267	+++ 72	+ 56	− 56
2	0,2		+++ 193	+++ 113	+++ 259	+++ 65	+ 66	− 48
3	0,3		+++ 175	+++ 95	+++ 252	+++ 58	+ 77	− 37
4	0,4		+++ 168	+++ 89	+++ 245	+++ 52	+ 77	− 37
5	0,5		+++ 162	+++ 77	+++ 237	+++ 47	+ 75	− 30
6	0,6		+++ 153	+++ 62	+++ 229	+++ 36	+ 76	− 26
7	0,7		+++ 150	+++ 49	+++ 221	+++ 30	+ 71	− 19
8	0,8		+++ 147	+++ 42	+++ 212	+++ 24	+ 65	− 18
9	0,9		+++ 144	+++ 38	+++ 205	+++ 21	+ 61	− 17
10	1,0		+++ 141	+++ 34	+++ 193	+++ 20	+ 52	− 14
11	1,1		+++ 138	+++ 31	+++ 178	+++ 18	+ 40	− 13
12	1,2		+++ 134	+++ 29	+++ 169	+++ 16	+ 35	− 13
13	1,3		+++ 132	+++ 27	+++ 166	+++ 13	+ 34	− 14
14	1,4		+++ 128	+++ 25	+++ 160	+++ 12	+ 32	− 13
15	1,5		+++ 126	+++ 24	+++ 157	+++ 10	+ 31	− 14

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 19°. 2. 20% Knochenmark-Ringerextrakt von normalen und milzlosen Kaninchen. 3. Die Volumendifferenzen werden mit 10%iger NaCl-Lösung ergänzt.

Splenektomiertes Kaninchen Nr. VIII, ♀.

Körpergewicht 1750 g. Splenektomie am 28. IV. 1917. Versuch (Protokollnummer LX) am 11. VII. 1917 (13 Tage nach der Splenektomie).

Kontrollkaninchen Nr. VIII, ♀.

Körpergewicht 1980 g. Versuch (Protokollnummer LX) am 11. VII. 1917.

Die Gerinnungsgeschwindigkeit von Fibrinogenlösung unter dem Einfluß von Knochenmarkextrakt beim milzlosen Kaninchen ist schneller als die des normalen Kaninchens, dagegen diejenige unter Einwirkung des Blutserums beim milzlosen Kaninchen langsamer als die beim normalen Tier.

An diesem Resultat ist zunächst interessant, daß das Gerinnungsvermögen des Thrombins aus dem Knochenmark und dasjenige des Thrombins aus dem Blutserum verschieden ist;

Tabelle VI^II.

In Gläschen Nr.	Serum oder Knochenmarkextrakt ccm		Geronnen nach normales Kaninchen Serum Min.	normales Kaninchen Knochenmarkextrakt Min.	splenekt. Kaninchen Serum Min.	splenekt. Kaninchen Knochenmarkextrakt Min.	Differenzen Serum Min.	Differenzen Knochenmarkextrakt Min.
1	0,1		+++ 234	+++ 123	+++ 252	+++ 75	+ 18	− 48
2	0,2		+++ 227	+++ 110	+++ 247	+++ 68	+ 20	− 42
3	0,3		+++ 21	+++ 101	+++ 238	+++ 63	+ 25	− 38
4	0,4		+++ 201	+++ 92	+++ 222	+++ 58	+ 21	− 34
5	0,5		+++ 185	+++ 86	+++ 213	+++ 52	+ 28	− 34
6	0,6		+++ 178	+++ 78	+++ 200	+++ 45	+ 22	− 33
7	0,7		+++ 172	+++ 69	+++ 191	+++ 41	+ 19	− 28
8	0,8	+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung	+++ 165	+++ 61	+++ 185	+++ 35	+ 20	− 26
9	0,9		+++ 160	+++ 53	+++ 183	+++ 29	+ 23	− 24
10	1,0		+++ 152	+++ 49	+++ 180	+++ 24	+ 28	− 25
11	1,1		+++ 148	+++ 45	+++ 177	+++ 20	+ 29	− 25
12	1,2		+++ 145	+++ 42	+++ 175	+++ 17	+ 30	− 25
13	1,3		+++ 142	+++ 39	+++ 171	+++ 13	+ 29	− 26
14	1,4		+++ 139	+++ 37	+++ 166	+++ 11	+ 27	− 26
15	1,5		+++ 138	+++ 35	+++ 159	+++ 8	+ 21	− 27

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 18°. 2. 20% Knochenmark-Ringerextrakt vom normalen und milzlosen Kaninchen. 3. Die Volumendifferenzen werden mit 1%iger NaCl-Lösung ergänzt.

ersteres erhöht, letzteres vermindert. Hier besteht ein deutlich ausgesprochener Gegensatz gegen die Ergebnisse beim schilddrüsenlosen Tier. Betrachten wir vorerst die Wirkung der Entfernung der Milz auf das Gerinnungsvermögen des Knochenmarkthrombins. Die von mir gefundene stärkere Wirkung steht im Einklang mit den Voraussetzungen, die man an die Folgen der Entmilzung knüpfen konnte. Da durch die früheren Arbeiten des Berner Institutes gefunden worden war, daß die Entfernung der Milz zu einer Förderung der Knochenmarkstätigkeit führt, daß gewissermaßen eine von der Milz ausgeübte Hemmung beseitigt wird, dürfte erwartet werden, daß der Thrombingehalt des Knochenmarks vermehrt werde. Da Erwartung und Ausfall des Experimentes sich decken, könnte man sich hierbei beruhigen, wenn nicht die Erfahrungen an schilddrüsenlosen Tieren gelehrt hätten, daß die Dinge nicht so einfach liegen. Hierzu kommt die weitere Schwierigkeit, daß der Thrombingehalt des Blutserums im entgegengesetzten Sinne sich geändert hat.

Man wird sich erinnern, daß ich im ersten Abschnitt meiner Arbeit auf einige Beobachtungen gestoßen bin, die auf einen Unterschied des Thrombins im Blutserum und des Thrombins aus Knochenmark hinwiesen. Ich erinnere an das oben beschriebene verschiedene Verhalten der beiden Thrombinarten gegenüber Reaktivierung durch verdünnte Alkalien und Säuren. Man könnte daher die Verschiedenheit des Gehaltes des Thrombins aus Knochenmark oder Blutserum beim milzlosen Tiere daraus erklären, daß eben die beiden Thrombinarten verschieden seien und deshalb nicht das gleiche Verhalten zu zeigen brauchten. Sofort würde die Frage entstehen, weshalb dann das gleiche Verhalten beim schilddrüsenlosen Tiere? Ohne zwingende Notwendigkeit wird man in erster Linie den Versuch machen, die Tatsachen nicht durch die Annahme von zwei verschiedenen Thrombinarten zu erklären, sondern an andere Möglichkeit zu denken, die in den verschiedenen Versuchsbedingungen liegen. Eine wesentliche Verschiedenheit in den Versuchsbedingungen liegt darin, daß die Thrombinlösungen aus Knochenmark voraussichtlich viel einfacherer Natur sind als die Thrombinlösung, die wir im Serum vor uns haben. Denn im Serum befinden sich nebeneinander eine Reihe von Faktoren, deren eigentliche Natur vollständig unaufgeklärt ist. Es wäre daher denkbar, daß die Verschiedenheit zwischen dem Gerinnungsvermögen des Thrombins im Serum schilddrüsenloser und in demjenigen milzloser Tiere, nicht auf einem Unterschied des Thrombins, sondern auf einem Unterschied jener andern Faktoren beruht, die im Serum enthalten, und an der Auslösung der Gerinnung durch das Serum beteiligt sind. Diese Fragen werden erst spruchreif werden, wenn wir besser über die Physiologie der Gerinnung orientiert sein werden. Wir müssen uns vorläufig mit der Behauptung begnügen, daß, zwar beurteilt nach der Tatsache, daß Blutserum, Schilddrüse und Milz einen antagonistischen Einfluß auf die bei der Gerinnung beteiligten Faktoren ausüben, daß jedoch nach dem Thrombingehalt des Knochenmarks beurteilt, die Entfernung von Schilddrüse und Milz im gleichen Sinne wirkt, und zwar verstärkend. Diese Tatsache legt die Vermutung nahe, ob nicht etwa der operative Eingriff als solcher, auf den Thrombingehalt des Knochenmarkes gewirkt haben könnte.

Um diese Ansicht zu prüfen, wurden an 2 Kaninchen eine einfache Laparotomie vorgenommen und das Knochenmark, wie auch das Blutserum, nach gewissen Zeiten untersucht. Das erhaltene Resultat ist wie folgt:

Laparotomiertes Kaninchen Nr. IX, ♂.

Körpergewicht 1800 g. Laparotomie am 13. VII. 1917. Versuch (Protokollnummer LXII) am 20. VII. 1917 (7 Tage nach der Laparotomie).

Kontrollkaninchen Nr. IX', ♀.

Körpergewicht 2100 g. Versuch am 20. VII. 1917 (Protokollnummer LXII).

Tabelle VII^II.

In Gläschen	Serum oder Knochenmarkextrakt		Geronnen nach				Differenzen	
			normales Kaninchen		laparot. Kaninchen			
			Serum	Knochenmarkextrakt	Serum	Knochenmarkextrakt	Serum	Knochenmarkextrakt
Nr.	ccm		Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.
1	0,1	+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung	++ 24	++ 127	++ 253	++ 133	+ 10	+ 6
2	0,2		++ 231	++ 119	++ 245	++ 120	+ 14	+ 1
3	0,3		++ 225	++ 93	++ 231	++ 113	+ 6	+ 10
4	0,4		++ 218	++ 85	++ 225	++ 90	+ 7	+ 5
5	0,5		++ 199	++ 79	++ 2[illegible]3	++ 76	+ 4	— 3
6	0,6		++ 192	++ 67	++ 196	++ 63	+ 4	— 4
7	0,7		++ 185	++ 55	++ 187	++ 53	+ 2	— 2
8	0,8		++ 179	++ 52	++ 1[illegible]2	++ 50	+ 3	— 2
9	0,9		++ 174	++ 49	++ 177	++ 48	+ 3	— 1
10	1,0		++ 169	++ 45	++ 172	++ 46	+ 3	+ 1
11	1,1		++ 161	++ 42	++ 164	++ 43	+ 3	+ 1
12	1,2		++ 155	++ 39	++ 157	++ 41	+ 2	+ 2
13	1,3		++ 151	++ 37	++ 154	++ 40	+ 3	+ 3
14	1,4		++ 149	++ 35	++ 152	++ 38	+ 3	+ 3
15	1,5		++ 146	++ 34	++ 149	++ 37	+ 3	+ 3

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 22,5°. 2. 17% Knochenmark-Ringerextrakt von normalen und laparotomierten Kaninchen. 3. Die Volumendifferenzen werden mit 1% iger NaCl-Lösung ergänzt.

Laparotomiertes Kaninchen Nr. X, ♀.

Körpergewicht 1800 g. Laparotomie am 13. VII. 1917. Versuch (Protokollnummer LXIV) am 26. VII. 1917. (13 Tage nach der Laparotomie.)

Kontrollkaninchen Nr. X', ♂.

Körpergewicht 2200 g. Versuch am 26. VII. 1917. (Protokollnummer LXIV).

Tabelle VIII^{II}.

In Gläschen Nr.	Serum oder Knochenmarkextrakt ccm		Geronnen nach: normales Kaninchen, Serum Min.	Geronnen nach: normales Kaninchen, Knochenmarkextrakt Min.	Geronnen nach: laparot. Kaninchen, Serum Min.	Geronnen nach: laparot. Kaninchen, Knochenmarkextrakt Min.	Differenzen: Serum Min.	Differenzen: Knochenmarkextrakt Min.
1	0,1	+ 0,5 ccm Fibrinogenlösung	+++ 257	+++ 117	+++ 243	+++ 119	−14	+ 2
2	0,2		+++ 231	+++ 99	+++ 223	+++ 102	− 8	+ 3
3	0,3		+++ 218	+++ 90	+++ 197	+++ 95	−21	+ 5
4	0,4		+++ 192	+++ 81	+++ 181	+++ 87	−11	+ 6
5	0,5		+++ 179	+++ 67	+++ 168	+++ 75	−11	+ 8
6	0,6		+++ 166	+++ 58	+++ 159	+++ 61	− 7	+ 3
7	0,7		+++ 157	+++ 53	+++ 152	+++ 57	− 5	+ 4
8	0,8		+++ 149	+++ 49	+++ 147	+++ 54	− 2	+ 5
9	0,9		+++ 145	+++ 46	+++ 143	+++ 48	− 2	+ 2
10	1,0		+++ 141	+++ 42	+++ 138	+++ 45	− 3	+ 3
11	1,1		+++ 138	+++ 39	+++ 136	+++ 41	− 2	+ 2
12	1,2		+++ 135	+++ 36	+++ 133	+++ 38	− 2	+ 2
13	1,3		+++ 133	+++ 34	+++ 129	+++ 35	− 4	+ 1
14	1,4		+++ 130	+++ 31	+++ 125	+++ 34	− 5	+ 3
15	1,5		+++ 128	+++ 29	+++ 122	+++ 33	− 6	+ 4

Bemerkungen: 1. Zimmertemperatur 21°. 2. 20% Knochenmark-Ringerextrakt vom normalen und laparotomierten Kaninchen. 3. Die Volumendifferenzen werden mit 1%iger NaCl-Lösung ergänzt.

Die oberen zwei Tabellen ergaben, daß die Differenzen zwischen dem Thrombingehalt im Knochenmark resp. im Blutserum des normalen und des laparotomierten Kaninchens sehr geringfügig sind.

Wenn man diese beiden Ergebnisse zusammenstellen wird, so werden diese Differenzen noch kleiner, wie Tabelle IX^{II} zeigt:

Tabelle IX^{II}.

Menge des Serums oder Knochenmarkextrakt ccm	Gerinnnungszeiten in Minuten												Differenzen zwischen normalen u. laparot. Kaninchen	
	Nr. der normalen Kaninchen						Nr. der laparot. Kaninchen							
	IX'		X'		Durchschn.		IX		X		Durchschn.			
	Serum	Knochenmarkextrakt	Serum	Knochenmarkextrakt	Serum	Knochenmarkextrakt	Serum	Knochenmarkextrakt	Serum	Knochenmarkextrakt	Serum	Knochenmarkextrakt	Serum	Knochenmarkextrakt
0,1	243	127	257	117	250	122	253	133	243	119	248	126	−2	+4
0,2	231	119	231	99	231	109	245	120	223	102	234	111	−3	+2
0,3	225	93	218	90	222	97	231	113	197	95	214	104	−8	+7
0,4	218	85	192	81	205	89	225	90	181	87	203	89	−2	0
0,5	199	79	179	67	189	83	203	76	168	75	186	76	−3	−7
0,6	192	67	166	58	179	73	196	63	159	61	178	62	−1	−11
0,7	185	55	157	53	171	62	187	53	152	57	170	55	−1	−7
0,8	179	52	149	49	164	57	182	50	147	54	165	52	−1	−5
0,9	174	49	145	46	160	51	177	48	143	48	160	48	0	−3
1,0	169	45	141	42	155	47	172	46	138	45	155	46	0	−1
1,1	161	42	138	39	150	44	164	43	136	41	150	42	0	−2
1,2	155	39	135	36	145	41	157	41	133	38	145	40	0	−1
1,3	151	37	133	34	142	38	154	40	129	35	142	38	0	0
1,4	149	35	130	31	140	36	152	38	125	34	139	36	−1	0
1,5	146	34	128	29	137	35	149	37	132	33	136	35	−1	0
Datum der Versuche	20. VII.		26. VII.		—		20. VII.		26. VII.		—		—	
Abgelaufene Tage nach der Operation	—		—		—		7		13		—		—	
%-Geh d. Knochenmarkextr.	—	17	—	20	—	19	—	17	—	20	—	19	—	

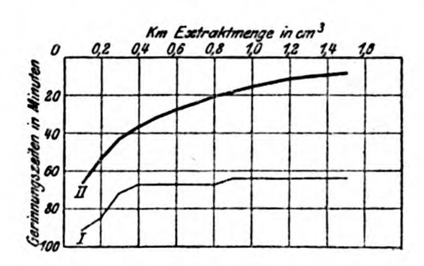


Fig. 9. Kurve I: normales Knochenmarkextrakt + Fibrinogen.
„ II: normales Blutserum + Fibrinogen.
„ III: laparotomiertes Knochenmarkextrakt + Fibrinogen.
„ IV: laparotomiertes Blutserum + Fibrinogen.

Diese unbedeutenden Differenzen des Thrombingehaltes können wir auch im Knochenmark bzw. im Blutserum der

normalen Kaninchen finden. Es läßt sich behaupten, daß das Knochenmark bzw. das Blutserum des normalen und des laparotomierten Kaninchens fast ganz gleichen Thrombingehalt enthält, infolgedessen hat der operative Eingriff im Bauch keinen Einfluß auf den Thrombingehalt des Knochenmarks bzw. des Blutserums.

Zusammenfassung.

Wir möchten hier die oben mitgeteilten Versuchsprotokolle zusammenstellen und die koagulierende Kraft bzw. den Thrombingehalt des Knochenmarks und des Blutserums bei thyreoidektomierten bzw. splenektomierten Kaninchen mit derjenigen der normalen Kaninchen vergleichen. In einer Zusammenstellung von 8 normalen Kaninchen haben wir in bezug auf das Thrombingehalt dieses Blutserums folgendes gefunden:

Tabelle X^II.

Thrombingehalt des Blutserums bei normalen Kaninchen.

Menge des Serums ccm	Gerinnungszeiten in Minuten								
	Nr. der normalen Kaninchen								Durchschnitt
	I′	II′	III′	IV′	VII′	VIII′	IX′	X′	
0,1	184	245	212	215	211	234	243	257	225
0,2	172	245	203	191	193	227	231	231	212
0,3	167	245	194	176	175	213	225	218	202
0,4	163	245	185	160	168	201	218	192	192
0,5	159	245	178	155	162	185	199	179	183
0,6	155	245	173	152	153	178	192	166	177
0,7	151	238	165	151	150	172	185	157	171
0,8	146	230	162	149	147	165	179	149	166
0,9	141	224	158	147	144	160	174	145	162
1,0	138	210	154	144	141	152	169	141	156
1,1	133	187	149	140	138	148	161	138	149
1,2	129	170	145	137	134	145	155	135	144
1,3	127	164	143	135	132	142	151	133	141
1,4	124	156	138	133	128	139	149	130	137
1,5	123	138	134	130	126	138	146	128	133
Datum der Versuche	24. V.	27. IV.	8. IV.	20. VI.	6. VII.	11. VII.	20. VII.	26. VII.	—

Die Differenzen des Thrombingehaltes zwischen dem Blutserum der normalen und der thyreoidektomierten bzw. splenektomierten Kaninchen sind die folgenden:

Tabelle XI^II.

Menge des Serums ccm	Gerinnungszeiten in Minuten: Nr. d. thyreoid. Kanin. I	II	III	Durchschnitt	Nr. d. splenekt. Kanin. IV	VII	VIII	Durchschnitt	Durchschnittszahl der Gerinnungszeit des normalen Kaninchenserums	Differenzen zwischen norm. u. thyreoidek. Kanin	norm. u. splenektom. Kaninchen
0,1	172	207	182	187	265	267	252	261	225	− 38	+ 36
0,2	165	207	178	183	247	259	247	251	212	− 29	+ 39
0,3	157	189	167	171	229	252	238	240	202	− 31	+ 38
0,4	149	187	162	166	213	245	222	227	192	− 26	+ 35
0,5	148	184	156	163	201	237	213	217	183	− 20	+ 34
0,6	144	180	150	158	198	229	200	209	177	− 19	+ 32
0,7	131	175	145	150	189	221	191	200	171	− 21	+ 29
0,8	125	163	142	143	176	212	185	191	166	− 23	+ 25
0,9	117	159	138	138	174	205	183	187	162	− 24	+ 25
1,0	113	152	135	133	172	193	180	182	156	− 23	+ 26
1,1	110	148	132	130	170	178	177	175	149	− 19	+ 26
1,2	108	143	129	127	167	169	175	170	144	− 17	+ 26
1,3	103	135	126	121	165	166	171	167	141	− 20	+ 26
1,4	98	126	124	116	161	160	166	162	137	− 21	+ 25
1,5	95	120	123	113	158	157	159	158	133	− 20	+ 25
Datum der Versuche	24. V.	14. V.	8. VI.	—	20. VI.	6. VII.	11. VII.	—	—	—	—
Abgelaufene Tage n. Operat.	20	10	16	—	7	8	13	—	—	—	—

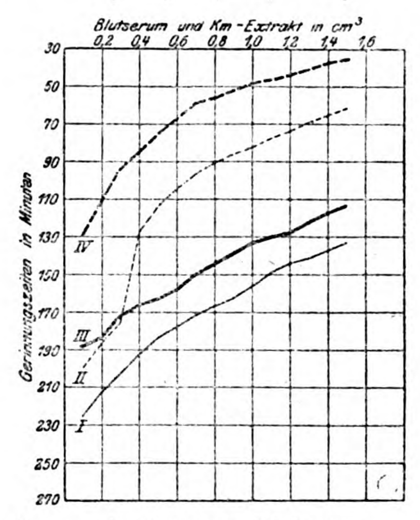


Fig. 10. **Kurve I: normales Serum + Fibrinogen.**
„ II: normales Knochenmarkextrakt + Fibrinogen.
„ III: thyreoidektomiertes Serum + Fibrinogen.
„ IV: thyreoidektomiertes Knochenmarkextrakt + Fibrinogen.

Infolge der Verschiedenheit der absoluten Mengen der erhaltenen Kaninchenknochenmarke war der Prozentgehalt der dargestellten Knochenmarkextrakte unter Umständen verschieden. Die Vergleichung des Thrombingehaltes im Knochenmark bei normalen und bei thyreoidektomierten bzw. splenektomierten Kaninchen wurde daher in jedem Versuch zusammengestellt.

Tabelle XII[II].

Vergleichung des Thrombingehaltes im Knochenmark bei normalen und thyreoidektomierten Kaninchen.

Menge des Knochenmarkextraktes ccm	Gerinnungszeiten in Minuten								Differenzen zwischen norm. u. thyreoid. Kanin.
	Nr. d. normal. Kaninchen				Nr. d. thyreoidekt. Kaninchen				
	I′	II′	III′	Durchschnitt	I	II	III	Durchschnitt	
0,1	153	250	193	199	123	127	136	**129**	**— 70**
0,2	127	250	181	186	91	118	128	**112**	**— 74**
0,3	119	232	175	175	80	85	117	**94**	**— 81**
0,4	113	104	161	126	72	79	103	**85**	**— 41**
0,5	102	86	152	113	59	70	92	**74**	**— 39**
0,6	97	75	141	104	56	55	87	**66**	**— 38**
0,7	89	68	130	96	52	44	82	**59**	**— 37**
0,8	83	65	123	90	47	42	78	**56**	**— 34**
0,9	76	63	119	86	43	39	74	**52**	**— 34**
1,0	71	61	113	82	40	36	69	**48**	**— 34**
1,1	67	57	108	77	39	33	66	**46**	**— 31**
1,2	64	53	102	73	36	31	62	**43**	**— 30**
1,3	60	50	96	69	34	27	59	**40**	**— 29**
1,4	58	47	89	65	30	22	58	**37**	**— 28**
1,5	55	45	83	61	28	19	57	**35**	**— 26**
Datum d. Versuche	24. V.	27. IV.	8. IV.	—	24. V.	14. V.	8. IV.	—	—
Abgelaufene Tage n. Operat.	—	—	—	—	20	10	16	**15**	—
%-Gehalt des Knochenmarkextraktes	13	13	13	13	13	13	13	**13**	—

Zusammengefaßt sind die Ergebnisse meiner Arbeit die nachfolgenden:

1. Nach Entfernung der Schilddrüse nimmt der Thrombingehalt des Knochenmarks wie auch des Serums erheblich zu

Tabelle XIII II.

Vergleichung des Thrombingehaltes im Knochenmark bei normalen und splenektomierten Kaninchen.

Menge des Knochenmark-extraktes ccm	Gerinnungszeiten in Minuten								Differenzen zwischen norm. u. splenekt. Kanin.
	Nr. d. normal. Kaninchen				Nr. d. splenekt. Kaninchen				
	IV′	VII′	VIII′	Durchschnitt	IV	VII	VIII	Durchschnitt	
0,1	236	128	123	162	218	72	75	122	— 40
0,2	200	113	110	141	175	65	68	103	— 38
0,3	191	95	101	129	154	58	63	92	— 37
0,4	166	89	92	116	138	52	58	83	— 33
0,5	152	77	86	105	124	47	52	74	— 31
0,6	137	62	78	92	112	36	45	64	— 28
0,7	121	49	69	80	90	30	41	54	— 26
0,8	94	42	61	66	72	24	35	44	— 22
0,9	74	38	53	55	55	21	29	35	— 20
1,0	60	34	49	48	46	20	24	30	— 18
1,1	54	31	45	43	39	18	20	26	— 17
1,2	50	29	42	40	34	16	17	22	— 18
1,3	43	27	39	36	30	13	13	20	— 16
1,4	41	25	37	34	27	12	11	17	— 17
1,5	36	24	35	32	24	10	8	14	— 18
Datum d. Versuche	20. VI.	6. VII.	1. VII.	—	20. VI.	6. VII.	11. VII.	—	—
Abgelaufene Tage n. Operat	—	—	—	—	7	8	13	9	—
%-Gehalt des Knochenmarkextraktes	16	20	20	19	16	20	20	19	—

Diese Tatsachen stehen im Einklang mit anderweitigen Erfahrungen am schilddrüsenkranken Menschen, wie sie Kottmann gefunden hat.

2. Nach Entfernung der Milz nimmt der Thrombingehalt des Knochenmarks gleichfalls stark zu, während derjenige im Blutserum beträchtlich abnimmt.

3. Das gegensätzliche Verhalten des Thrombins in beiden Fällen kann entweder darauf zurückgeführt werden, daß es mehr wie eine Thrombinart gibt, oder darauf, daß im Serum mehrere Faktoren an der Gerinnung beteiligt sind, von denen der eine durch die Schilddrüse, ein anderer durch die Milz beeinflußt wird.

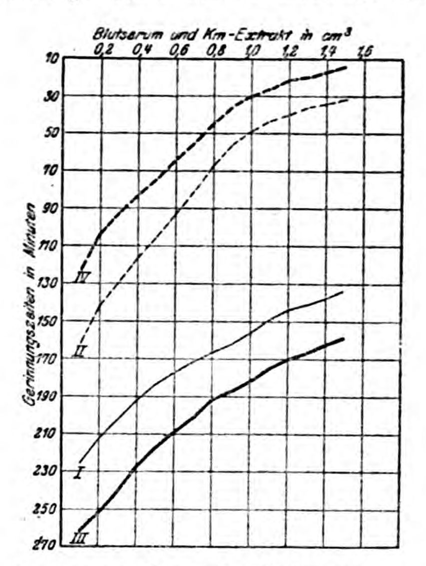


Fig. 11. Kurve I: normales Serum + Fibrinogen.
" II: normales Knochenmarkextrakt + Fibrinogen.
" III: splenektomiertes Serum + Fibrinogen.
" IV: splenektomiertes Knochenmarkextrakt + Fibrinogen.

Die nach der Schilddrüse bzw. Milzexstirpation abgelaufene Zeit hat keinen Einfluß auf die Größe der Veränderungen im Thrombingehalt des Knochenmarks bzw. Blutserums.

4. Das Verhalten des Blutserums beim Gerinnungsvorgang ist ein neuer Beweis dafür, daß Schilddrüse und Milz für gewisse Funktionen des Organismus im antagonistischen Verhältnis stehen.

Über Bestimmungen der alveolären Kohlensäurespannung mit Henderson-Russels Modifikation der Haldaneschen Methode und deren Anwendung zur Prüfung der Erregbarkeitszustände des Atemzentrums.

Von

Eugen Jenni.

(Aus dem Physiologischen Institut in Bern.)

(Eingegangen am 11. Februar 1918.)

Mit 2 Figuren im Text.

Einleitung.

Während langer Zeit war es in der Physiologie der Atmung eine unentschiedene Frage, welches unter normalen Bedingungen der bestimmende Faktor für die Regulation der Atmung sei. Daß der normale Reiz für das Atemzentrum im Blute mitgeführt werden muß, hat Frédéricq (5, 344) nachgewiesen, indem es ihm gelungen ist, bei einem Tiere, wenn dessen Atemzentrum von arteriellem Blute eines zweiten künstlich geatmeten Tieres durchströmt wird, Apnoe zu erzeugen. Ob aber dem Sauerstoff oder der Kohlensäure die führende Rolle zukomme, war trotz der vielen Untersuchungen, die im Hinblick auf diese Frage ausgeführt worden sind, nicht zu entscheiden. Die alleinige ganz sichere Tatsache war eigentlich die, daß — wie schon Pflüger erkannte — sowohl Mangel an O_2 wie Überschuß an CO_2 eine Hyperpnoe zu erzeugen vermögen. Wie sich später herausstellte, war der Grund für die vielen sich widersprechenden Versuche darin zu suchen, daß bei diesen im allgemeinen zu hohe Prozentsätze der betreffenden Gase verwendet wurden. Neue Wege wurden dann durch Haldane und Lorrain Smith (5, 345) eröffnet. Diese untersuchten am Menschen die Wirkung der durch die Ausatmung verdorbenen Luft auf die Lungenventilation, indem sie die Versuchsperson

in einen luftdicht verschlossenen und unventilierten Raum brachten, und sie fanden, daß die allmählich sich entwickelnde Hyperpnoe, die für die Versuchsperson deutlich bemerkbar wurde, als die CO_2 in der eingeatmeten Luft ungefähr 3% betrug, durch diesen Überschuß an CO_2 hervorgerufen wurde. Sorgten sie nämlich für Beseitigung der ausgeatmeten CO_2, so zeigte es sich, daß eine Herabsetzung des Sauerstoffprozentsatzes bis zu dem entsprechenden Grade, bei dem im erstgenannten Versuche die Hyperpnoe aufgetreten, keine vermehrte Lungenventilation hervorrief; erst wenn der Sauerstoff in der eingeatmeten Luft auf ungefähr 6% gesunken war, setzte ziemlich rasch eine heftige Hyperpnoe ein. Gestützt auf diese Resultate und die Theorie Mieschers (5, 346), daß das Wesentliche bei der Regulierung der Lungenventilation der Kohlensäuredruck im Atemzentrum sei, stellten sich Haldane und Priestley die Aufgabe, die Spannung der Gase in der Alveolarluft zu bestimmen, indem ja die Spannung der Gase im arteriellen Blute entsprechend der Zusammensetzung der Alveolarluft sich ändern muß. Alveolargasbestimmungen wurden zwar schon früher ausgeführt, so von Bohr, Loewy u. a., doch handelte es sich stets um indirekte Methoden, indem die Zusammensetzung der Alveolarluft aus der Zusammensetzung der ausgeatmeten Luft, dem mittleren Volumen eines Atemzuges und der Größe des schädlichen Raumes berechnet wurde. Jeder indirekten Methode haftet aber die Unsicherheit an, daß bis jetzt eine genaue Methode der Berechnung des schädlichen Raumes fehlt.

Es ist nun das Verdienst von Haldane und Priestley (1), eine direkte Methode zur Bestimmung der Alveolargase ausgearbeitet zu haben, mit deren Hilfe bis heute zahlreiche wertvolle Resultate erhalten wurden. Durch diese Methode ist es den beiden Forschern gelungen, nachzuweisen, daß tatsächlich die CO_2 der wesentliche Faktor für die Regulation der Atmung ist. Sie fanden nämlich, daß bei jedem von ihnen in der Ruhe der Kohlensäureprozentsatz in ihrer Alveolarluft, während vieler Monate wiederholt bestimmt, für den einzelnen einen verschiedenen, bei beiden aber auffallend konstante Werte zeigte, für Priestley im Mittel 6,28%, für Haldane 5,62%. Weitere Untersuchungen bei großen Unterschieden des atmosphärischen Druckes (auf dem Grunde eines Bergwerkes, auf einer Höhe

von 1300 m, sowie in einem Raume mit komprimierter Luft) ergaben, daß der CO_2-Prozentsatz umgekehrt zum atmosphärischen Drucke variiert. Diese Resultate wurden von Boycott und Haldane (12) bestätigt, die Alveolargasbestimmungen bei einem atmosphärischen Drucke bis zu 3000 mm Hg ausführten. Haldane und Priestley untersuchten dann von neuem die Wirkung der CO_2 (in verschiedenen Prozentsätzen) in der eingeatmeten Luft, und sie fanden, daß die geringe Erhöhung von 0,2 bis 0,3 % CO_2 in der Alveolarluft genügt, um die Lungenventilation zu verdoppeln.

Demnach wird also die Regulation der Atmung in der Ruhe so bewerkstelligt, daß die CO_2-Spannung im arteriellen Blute konstant erhalten wird. Jede Erhöhung derselben bewirkt eine Hyperpnoe, die letzten Endes den Zweck hat, durch die erhöhte Alveolarventilation die normale Spannung wieder herzustellen. Umgekehrt ist aber diese normale CO_2-Spannung, die, wie erwähnt, für das einzelne Individuum einen konstanten, für verschiedene aber einen verschiedenen Wert darstellt, nötig, um das Atemzentrum überhaupt in Tätigkeit zu versetzen, mit anderen Worten, sie stellt einen Schwellenwert dar, der erreicht werden muß, um die Atembewegungen auszulösen. Daß diese Wertschwelle tatsächlich besteht, haben Haldane und Priestley mit dem einfachen Versuche, eine Apnoe durch forciertes Atmen (einige rasche und tiefe Atemzüge) zu erzeugen, nachgewiesen. Die Apnoe kann nämlich verhindert werden, wenn der CO_2-Prozentsatz in der eingeatmeten Luft nur wenig unter demjenigen der Alveolarluft ist und folglich die durch das forcierte Atmen sonst rasch eintretende Senkung der arteriellen CO_2-Spannung verunmöglicht wird.

Aus dem oben Angeführten ersehen wir also, daß neben den Vagus- und Sympathicuseinflüssen auf die Atmung, die vor allem für eine koordinierte und ökonomische Arbeitsleistung zu sorgen haben, die arterielle CO_2-Spannung einen normalen chemischen Reiz für das Atemzentrum darstellt, der die Regulierung des Gasaustausches beherrscht.

Was nun die bei O_2-Mangel entstehende Hyperpnoe betrifft, hat sich gezeigt, daß, wie schon Pflüger vermutete, der O_2-Mangel an sich keinen Reiz für das Atemzentrum darstellt. Geppert, Zuntz und Loewy (8, 389) haben bewiesen, daß in-

folge des Sauerstoffmangels unvollständig oxydierte saure Produkte entstehen, vor allem Milchsäure, die ihrerseits das Zentrum erregen. Wenn also solche Stoffe gebildet werden, ist auch eine geringere Menge CO_2 nötig, was völlig mit der schon von Haldane nnd Poulton (2) gemachten Beobachtung, daß die Reizschwelle der CO_2 bei O_2-Mangel herabgesetzt gefunden wird, übereinstimmt.

Spätere Beobachtungen über die Wirkungen der Veränderung der Blutreaktion auf das Atemzentrum haben nun allerdings ergeben, daß nicht die Kohlensäure an sich, sondern das H-Ion der wesentlichste Faktor ist. Aus Untersuchungen von Hasselbalch (13) geht hervor, daß, wie schon vorher Winterstein gelehrt hatte, der wahre chemische Reiz, der für die Erregung des Atemzentrums in Betracht kommt, die Gesamtacidität, d. h. die Wasserstoffionenkonzentration des Blutes ist. Somit wird also jegliche Vermehrung von H-Ionen im Blute und nicht nur eine Zunahme der Kohlensäure die Lungenventilation steigern; die Folge ist, daß mehr Kohlensäure ausgeschieden und dadurch die Wasserstoffionenkonzentration der Norm zugeführt wird. Diese Theorie erklärt nun auch, wieso sowohl Milchsäure und andere Säuren in gleicher Weise wie die Kohlensäure auf das Atemzentrum wirken und beläßt letzterer zugleich die vorherrschende Stellung für die Regulation der Atmung. Denn wie Douglas (5) und Porges (8) besonders aufmerksam machen, kommen unter normalen Bedingungen als saure Produkte nur gewisse Endprodukte des Eiweißabbaues sowie Kohlensäure in Betracht, und erstere, die nur langsam entstehen, werden durch die regulatorische Tätigkeit der Nieren ausgeschieden.

Im folgenden seien nun die wichtigsten Resultate, die mit Hilfe der Haldaneschen Methode erhalten wurden, kurz zusammengestellt, da wir diese zur Beurteilung der später besprochenen Versuche benötigen.

Es hat sich herausgestellt, daß die für den einzelnen als konstant erklärte CO_2-Spannung auch unter normalen Bedingungen doch gewissen Schwankungen ausgesetzt ist, die aber eine deutliche Gesetzmäßigkeit erkennen lassen. Erdt (7) fand regelmäßige Tagesschwankungen der alveolaren CO_3-Spannung, die ein ähnliches Bild wie eine normale Temperaturkurve zeigen. Morgens nüchtern relativ geringe Werte; nach dem Frühstück trat eine geringe Erhöhung von ca. 0,5 mm auf; im späteren

Vormittag läßt die Kurve noch eine kleine Steigerung erkennen (1. Maximum), um dann vor dem Mittag einen meist sehr deutlichen Abfall zu zeigen. Nach dem Mittagessen stellt sich ein zweiter Anstieg ein (2. Maximum), der meist einige Stunden anhält und höher als das erste Maximum liegt. Die Kurve zeigt dann eine weitere geringe Senkung, um am Abend nochmals etwas anzusteigen. Die Ursache dieser Tagesschwankungen ist nach den Untersuchungen von Porges, Leimdörfer und Marcovici (9) sowie Higgins (10), die eine deutliche Steigerung der alveolaren CO_2-Spannung nach Nahrungsaufnahme konstatierten, in den Verdauungsvorgängen zu suchen, indem durch die Sekretion des Magensaftes dem Blute reichlich saure Valenzen entzogen werden, was, zur Erhaltung der konstanten Wasserstoffionenkonzentration des Blutes, dem chemischen Reize für das Atemzentrum, eine Erhöhung der arteriellen CO_2-Spannung zur Folge hat. Higgins erachtete allerdings diese Deutung für ungenügend, indem er geltend machte, daß schon kurz nach Beginn der Magensaftsekretion auch der alkalische Pankreassaft abgeschieden werde, wodurch also der erste Effekt aufgehoben würde. Die erstgenannten Forscher machen aber darauf aufmerksam, daß in erster Linie die quantitativen Verhältnisse in Rechnung zu setzen seien und folglich im Beginne und auf der Höhe der Magenverdauung dem Blute sicher mehr saure als alkalische Valenzen entzogen werden. Nach Erdt soll die tägliche Schwankung im Durchschnitt 1,4 mm betragen, nur ausnahmsweise fand er eine Tagesschwankung von mehr als 2 mm. Diese Resultate Erdts harren allerdings einstweilen noch der Bestätigung. So hat z B. Higgins, der nach Nahrungsaufnahme wohl deutliche Steigerungen der Spannung nachgewiesen, keine ausgesprochene regelmäßige Tagesschwankungen finden können.

Straub (7) sowie Lindhard fanden ferner bei einigen Personen Variationen nach der Jahreszeit, indem diese im Winter höhere Werte als im Sommer aufwiesen, während bei anderen konstante Werte erhalten wurden, was mit den Untersuchungen von Haldane und Douglas übereinstimmt, die sich von einer Veränderung mit der Jahreszeit nicht überzeugen konnten. Wenn also solche Schwankungen auftreten, so scheinen sie sich bei den verschiedenen Individuen immerhin sehr verschieden stark geltend zu machen und treten wohl nur ganz allmählich ein. Von Boycott und Haldane wurden dann geringe Veränderungen mit dem Temperaturwechsel konstatiert, und zwar bei Erhöhung ein Sinken, bei Temperatursenkung eine leichte Steigerung in der CO_2-Spannung. Es ist denkbar, daß dies bei den sich widersprechenden Angaben über die Werte zu verschiedenen Jahreszeiten eine Rolle spielt.

Im weiteren hat sich, wie zu erwarten war, gezeigt, daß auch die Art der Nahrung einen Einfluß auf die alveolare CO_2-Spannung hat. So zeigten Straub (6) und andere, daß eine kohlehydratfreie Kost die Spannung anfangs zum Sinken bringt, doch steigt diese, auch bei fortgesetzter Diät, nach 3 bis 6 Tagen wieder zu normalen Werten an; nach Erdt (7) soll ferner trotz der Senkung der Charakter der gewöhnlichen

Tagesschwankungen erhalten bleiben. So fanden auch Porges (9) und seine Mitarbeiter, daß fleisch- und eiweißreiche Diät im Sinne einer Herabsetzung der alveolaren CO_2-Spannung wirken, während Pflanzenkost eine Steigerung hervorrief.

Erwähnt sei noch, daß, wie Higgins (10) zeigte, auch die Stellung der Versuchsperson einen deutlichen Einfluß auf die Spannung ausübt Die niedrigsten Werte fand er, wenn die Versuchsperson bei der Gewinnung der Luftprobe stand, etwas höhere beim Sitzen und die höchsten in Rücken- und Seitenlage. Dabei betont er, daß es ohne jeden Einfluß war, ob die Person erst vor dem Versuche in die betreffende Stellung gebracht wurde oder schon längere Zeit in derselben verharrt hatte. Higgins zieht daraus den Schluß, daß je weniger anstrengend, je bequemer, erschlaffter (relaxed position) die Stellung ist, um so höhere Werte die CO_2-Spannung ergibt. Eine nähere Erklärung dafür wird nicht angeführt, nur macht Higgins darauf aufmerksam, daß dies nicht etwa die Folge von nervösen Einflüssen des Zwerchfells auf das Atemzentrum sein könne, indem in der Trendelenburgschen Lage, in der ja der auf das Zwerchfell ausgeübte Druck der stärkste sein muß, ungefähr dieselben Werte gefunden werden wie beim Sitzen.

Untersuchungen über die CO_2-Spannung während einer Arbeitsleistung haben ergeben, daß bei mäßiger Muskeltätigkeit die alveolare CO_2-Spannung steigt, folglich eine Hyperpnoe auftritt, während bei großer Anstrengung zwar anfänglich auch eine Steigerung zu konstatieren ist, dann aber eine starke Senkung unter die Norm stattfindet, die auch nach Beendigung der Arbeit erst allmählich zum normalen Werte zurückkehrt. Dies beruht auf einem ähnlichen Vorgange, wie wir ihn bei dem O_2-Mangel angetroffen haben. Infolge der übermäßigen Arbeitsleistung ist tatsächlich mehr O_2 nötig als effektiv herbeigeschafft werden kann, weshalb die dadurch entstehenden unvollständig oxydierten Produkte als zweiter Reiz zu der CO_2 hinzukommen, was eine heftige Hyperpnoe zur Folge hat, durch die wiederum reichlich CO_2 ausgeschieden wird; es wird also der Schwellenwert für diese herabgesetzt. Das langsame Eintreffen des normalen Wertes nach Beendigung der Arbeit beruht auf der nur langsam stattfindenden Entfernung der betreffenden Körper, vor allem Milchsäure, durch die Niere.

Alveolargasanalysen bei pathologischen Zuständen haben nun erwiesen, daß der Methode auch hier eine große Bedeutung zukommt. Da man, wie wir oben gesehen, in der alveolaren CO_2-Spannung einen Maßstab für die Blutacidität hat, so war es naheliegend, dieselbe bei Krankheitszuständen, die mit Acidose einhergehen können, zu prüfen. So fand Straub (6) bei der diabetischen Acidose ganz beträchtliche Herabsetzungen der Spannung, ebenso Porges, Leimdörfer und Marcovici (8) (diese mit Pleschs Methode), die darin direkt eine kompensatorische Tätigkeit erblicken. Zudem hat sich herausgestellt, daß der Grad der Herabsetzung in Beziehung zu der Säuremenge steht, so daß wir darin also wirklich einen Gradmesser für die diabetische Acidose

besitzen. Dieselben Autoren (9) fanden ferner bei Nephritiden ohne Zeichen starker Insuffizienz (wie Ödeme und urämische Symptome) normale Werte der CO_2-Spannung, während sie bei stark dekompensierter Nierenleistung eine deutliche Herabsetzung der Spannung konstatierten, worin sie eine Wirkung der Säureretention erblicken. Die Herabsetzung soll mit den urämischen Symptomen parallel gehen. Porges und Leimdörfer (9) prüften ferner die Spannung bei dyspnoischen Zuständen und gaben an, daß bei reiner kardialer Dyspnoe eine verminderte CO_2-Spannung zu finden sei, während die erhöhte Spannung das Charakteristikum der pulmonalen Dyspnoe darstelle. Inwieweit allerdings der Begriff einer reinen kardialen resp. pulmonalen Dyspnoe aufrecht zu halten ist, kann hier nicht näher erörtert werden. Bemerkenswerte Resultate erhielten Hasselbalch und Gammeltoft (11) durch Untersuchungen vor und während der Schwangerschaft. Sie fanden nämlich die alveolare CO_2-Spannung während derselben durchschnittlich 7 mm unter der Norm, und sie konnten nachweisen, daß es die Folge einer in der Schwangerschaft auftretenden vermehrten Säureproduktion ist, die durch die herabgesetzte CO_2-Spannung kompensiert wird. Nach Novak und Porges soll die Verminderung schon im zweiten Schwangerschaftsmonate zu finden sein.

Zum Schlusse mag noch erwähnt werden, daß auch, wie Beckmann (7) nachgewiesen, starke psychische Erregungen sowohl bei Gesunden wie Kranken eine Senkung der Spannung um mehrere Millimeter bewirken können, die er auf eine erhöhte Erregbarkeit des Atemzentrums zurückführt.

Methodik.

Das Prinzip der Haldanesche Methode zur direkten Gewinnung von Alveolarluft besteht bekanntlich darin, daß eine rasche und tiefe Ausatmung durch einen langen Schlauch ausgeführt wird und man die zur Analyse gelangende Luftprobe möglichst nahe dem Munde gewinnt. Durch diese einfache Versuchsanordnung wird sämtliche Luft des schädlichen Raumes ausgestoßen, und in dem Schlauche bleibt nur die zuletzt ausgeatmete Alveolarluft. Daß wir es wirklich mit Alveolarluft zu tun haben, hat Haldane dadurch nachgewiesen, daß er sämtliche aus dem Schlauche ausgetriebene Luft in einem Spirometer auffing und ihren Kohlensäuregehalt bestimmte, wobei er fand, daß der Wert praktisch stets derselbe war, ob normal oder maximal tief ausgeatmet wurde, und es folglich sicher nur Luft des schädlichen Raumes sein konnte.

Haldane benützt einen Schlauch von $1^1/_2$ bis 2 m Länge und $1^1/_2$ bis 2 cm lichtem Durchmesser. Am einen Ende ist ein leicht zu desinfizierendes Glasmundstück eingesetzt, 5 bis 8 cm lang und mit einem lichten Durchmesser von 1 bis $1^1/_2$ cm. Der Schlauch wird an Stativen so befestigt, daß der Versuchsperson das Mundstück ohne starke Veränderung ihrer Stellung leicht erreichbar ist. Möglichst nahe dem Mundstück ist unten im Schlauche eine Öffnung angebracht, durch die

man den Hals eines pipettenartigen Quecksilberbehälters, oben und unten mit einem Hahn versehen, einführt. Nachdem die Versuchsperson, die völlig normal atmen soll, eine rasche und tiefe Ausatmung in den Schlauch ausgeführt hat, worauf sie das Mundstück sofort mit der Zunge verschließt, wird der Hahn zum Quecksilberbehälter geöffnet und die Gasprobe, durch Ablassen des Hg durch den unteren Hahn, gewonnen. Die so erhaltene Alveolarluftprobe wird nun im Haldaneschen Apparate — ursprünglich zur Untersuchung von Minengasen — benützt, die auf dem Prinzip von Hempel aufgebaut ist, analysiert. Für jede Bestimmung der Spannung der Alveolargase untersucht Haldane zwei Luftproben, und zwar die eine gewonnen durch Ausatmung nach einer gewöhnlichen Inspiration, die andere durch Ausatmung am Ende einer normalen Exspiration. Dies aus dem leicht ersichtlichen Grunde, weil ja am Ende einer Inspiration der Sauerstoffgehalt der Alveolarluft am höchsten und der Kohlensäuregehalt am niedrigsten sein muß, und umgekehrt am Ende einer Exspiration. Es wird deshalb aus diesen beiden Werten das Mittel genommen.

Henderson und Russel (4) haben nun eine Modifikation der Methode angegeben, die zwar nur die Bestimmung der Kohlensäurespannung gestattet, die aber den großen Vorteil hat, daß sie überall, ohne besondere gasanalytische Apparate, mit dem gewöhnlichen Laboratoriumsmaterial leicht ausgeführt werden kann. Übrigens werden wir ja durch Bestimmung der Kohlensäure über den hauptsächlichsten Faktor der chemischen Atmungsregulation aufgeklärt. Zudem betont Henderson mit Recht, daß der sehr genaue, aber delikate Haldanesche Gasanalysenapparat nur vom Geübten, der fast täglich mit dem Instrumente arbeitet, richtig gehandhabt werden kann und sich demjenigen, der nur gelegentlich Alveolargasbestimmungen ausführt, ziemliche technische Schwierigkeiten entgegenstellen, was natürlich zu ungenauen Resultaten führen muß. Auch hierin bietet nun die Hendersonsche Methode den Vorteil der einfachen technischen Ausführung, bei einer — wie wir später sehen werden — völlig genügenden Genauigkeit.

Henderson und Russel[1]) benützen anstatt des Quecksilberbehälters eine aus drei zusammenhängenden Kugeln bestehende Pipette, deren Gesamtinhalt ungefähr 150 ccm beträgt. (Siehe Zeichnung 1.) An der Einkerbung zwischen der untersten und der mittleren Kugel ist eine gut sichtbare Marke (*m*) angebracht. Unten wird die Pipette mit einem Schlauch und Quetschhahn, letzterer so nahe als möglich am Glase angesetzt, geschlossen. Durch Eichung mit Wasser aus einer Bürette wird das Volumen der untersten Kugel bis zu der Marke *m*, sowie dasjenige der beiden oberen bestimmt. Die Pipette wird von einem Wassermantel (*C*), den man sich leicht aus einer Flasche, der man den Boden

[1]) Ich halte mich bei der Beschreibung der Methode genau an Henderson und Russels Arbeit im Americ. Journ. of Physiol. 29, 1911 bis 1912

absprengt, herstellen kann, umgeben; im Wassermantel ist ein Thermometer angebracht.

Als Absorptionsflüssigkeit dient eine ca. $^n/_{40}$-Normalbaryumhydroxydlösung.

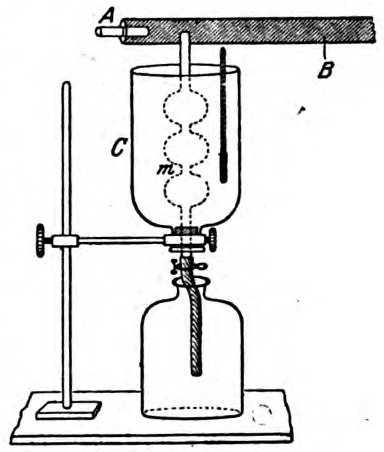


Fig. 1.

Beim Versuch wird nun die Pipette durch Ansaugen aus der Flasche mit der Barytlösung vollständig gefüllt, der Quetschhahn geschlossen und das obere Ende der Pipette in die Öffnung des Schlauches (*B*) eingesetzt. Der Mantel wird mit Wasser von Zimmertemperatur gefüllt. Nachdem die Versuchsperson, die, wie schon erwähnt, ganz natürlich atmen soll, am Ende einer normalen Einatmung eine rasche und tiefe Exspiration in den Schlauch ausgeführt und das Mundstück sofort mit der Zunge verschlossen hat, worauf sie ruhig weiteratmen kann, wird der Quetschhahn geöffnet und die Barytlösung ziemlich rasch bis zu der Marke abgelassen. Man wartet nun 20 bis 30 Sekunden, während welcher Zeit die Luftprobe die Temperatur des Wassers annimmt. Temperatur und Barometerstand werden notiert. Das obere Ende der Pipette wird jetzt aus dem Schlauche entfernt und rasch mit dem Finger fest verschlossen. Die Bürette wird nun umgestülpt, wobei gleichzeitig der Wassermantel entleert wird, und die Luftprobe 1 bis 2 Minuten mit der Barytlösung tüchtig durchschüttelt, wobei ein starker Niederschlag von Baryumcarbonat entsteht. Der Schlauch am unteren Ende der Pipette wird nun ohne Lüftung der Klemme entfernt und die Lösung in eine trockene Flasche (am besten Erlenmeyerkölbchen von ca. 100 ccm) gegossen, die sofort gut verschlossen wird. Die Lösung bleibt 1 bis 2 Stunden stehen, in welcher Zeit das Baryumcarbonat völlig sedimentiert. Von der klaren überstehenden Flüssigkeit werden jetzt 10 ccm in ein trockenes Erlenmeyerkölbchen abpipettiert und mit $^n/_{40}$-Normal-Salzsäure- oder Oxalsäurelösung, von der vorher genau bestimmt worden ist, wieviel Kubikzentimeter nötig sind, um 10 ccm unserer Barytlösung zu neutralisieren, titriert. Als Indicator dient Phenolphthalein.

Wie bei der ursprünglichen Haldaneschen Methode wird eine zweite Bestimmung am Ende einer normalen Exspiration gemacht und aus diesen beiden Werten das Mittel genommen.

Die Berechnung wird nun folgendermaßen ausgeführt. Das Volumen der beiden oberen Kugeln (Luftprobe) betrage 128,5 ccm, dasjenige der untersten 66,5 ccm (Barytlösung). Ist die Barytlösung genau $^n/_{40}$-normal,

so entspricht einem Kubikzentimeter davon 0,00055 g CO_2. Die von der Kohlensäure in Beschlag genommene Menge der Barytlösung sei „d“ ccm. Dann ist Gewichtsmenge CO_2 in 1 ccm Alveolarluft:

$$\frac{0{,}00055 \cdot 6{,}65}{128{,}5} \cdot d = a \text{ g } CO_2.$$

Dividiert man diesen Wert „a“ durch das Gewicht von 1 ccm reiner CO_2 bei der beobachteten Temperatur und dem beobachteten Barometerstand minus der Spannung des Wasserdampfes bei der Beobachtungstemperatur (dieser Wert sei „b“), so ist $\frac{a}{b} \cdot 100$ = dem Prozentgehalt der Kohlensäure in der trockenen Alveolarluft. Dieser so gefundene Wert $\frac{a}{b}$ multipliziert mit dem barometrischen Druck minus der Spannung des Wasserdampfes in den Lungen bei Körpertemperatur (47 mm Hg) ergibt den Partiardruck der CO_2 in der Alveolarluft in Millimeter Hg.

Beispiel: Zur Neutralisierung von 10 ccm der Barytlösung seien 11,2 ccm $^n/_{40}$-Normalsalzsäure notwendig. Dann entsprechen einem Kubikzentimeter Barytlösung 0,000616 g CO_2. Nach dem Versuche tritt die Neutralisierung bei 7,7 ccm $^n/_{40}$-Normalsalzsäure ein; die Differenz beträgt also 3,5 ccm.

Dann ist:

$$d = \frac{10 \cdot 3{,}5}{11{,}2} = 3{,}13 \text{ ccm.}$$

Folglich:

$$\begin{aligned} a &= \frac{0{,}000616 \cdot 6{,}65}{128{,}5} \cdot 3{,}13 \\ &= \log \frac{0{,}000616 \cdot 6{,}65}{128{,}5} + \log 313 \\ &= 0{,}503 \quad 4992 - 5 \\ &+ 0{,}494 \quad 8500 \\ &\overline{0{,}998 \quad 3492 - 5.} \end{aligned}$$

Barometer: 716 mm. Temperatur 18°.
Dann ist $b = 0{,}001701$ g,

$$\begin{aligned} \frac{a}{b} &= 0{,}998 \quad 3492 - 5 \\ &-0{,}230 \quad 7043 - 3 \\ &\overline{0{,}767 \quad 6349 - 2,} \\ \frac{a}{b} \cdot 100 &= 5{,}856. \end{aligned}$$

Wir finden also einen Prozentsatz von 5,856 CO_2 in der trockenen Alveolarluft.

$$\begin{aligned} \frac{a}{b} \cdot 669 &= 0{,}767 \quad 6349 - 2 \\ &+ 2{,}825 \quad 4261 \\ &\overline{1{,}593 \quad 0710.} \end{aligned}$$

Die alveolare CO_2-Spannung beträgt also: 39,18 mm Hg.

Will man nun die Hendersonsche Methode für größere Versuchsreihen benützen, so muß man bei der Aufbewahrung der Barytlösung einige Vorsichtsmaßregeln treffen. Das Füllen der Pipette durch bloßes Ansaugen aus der Flasche, wodurch die Luft immer wieder Zutritt zu der Barytlösung bekommt, geht nicht an, denn letztere zieht ziemlich rasch Kohlensäure an, und in einem Laboratorium oder sonst einem Arbeitsraume müssen wir, auch bei guter Lüftung, doch mit bedeutend größeren Prozentsätzen von CO_2 rechnen, als in der freien Luft, wo die 0,03 % eventuell vernachlässigt werden könnten. Zudem wird durch das Eintauchen des Schlauches die Lösung stets umgerührt, und bekanntlich absorbiert eine mit Wasser befeuchtete Oberfläche ziemlich viel CO_2, wovon man sich leicht überzeugen kann, indem man in ein feuchtes Gefäß etwas Barytwasser gießt, wobei auf der Oberfläche der Flüssigkeit in Form eines feinen weißen schwimmenden Häutchens sofort ein Niederschlag von Baryumcarbonat entsteht. Der Titer der Lösung würde sich also im Verlaufe einer längeren Versuchsreihe bedeutend ändern, und um den Titer nicht jeden Augenblick nachprüfen zu müssen, ist es deshalb erforderlich, die Baryumhydroxydlösung so aufzubewahren, daß ein Zutritt von Kohlensäure unmöglich ist. Zu diesem Zwecke benützt man am besten eine möglichst große Vorratsflasche (5 oder mehr Liter), die über dem Kork, in dem 3 Öffnungen angebracht sind, mit Paraffin gut abgedichtet ist. Durch die eine Öffnung verläuft ein ┌┐-förmiges Glasrohr (*A*. Siehe Figur 2), das zum Füllen der Pipette dient; durch die beiden anderen Öffnungen verlaufen zwei kurze rechtwinklige Rohre, wovon das eine (*C*) das Nachfüllen der Flasche gestattet, während das andere (*B*) mit einem Natronkalkrohr in Verbindung steht, durch welches die CO_2 der einströmenden Luft absorbiert wird. Bei *a*, *b* und *c* sind an kurzen Gummischaltstücken Quetschhähne angebracht.

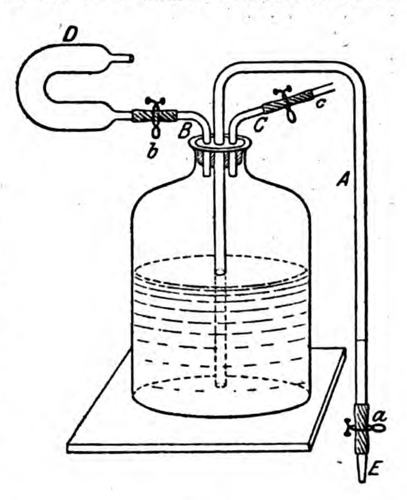


Fig. 2.

Was nun die Herstellung einer $^n/_{40}$-Normalbarytlösung betrifft, ist daran zu erinnern, daß dies nicht durch einfaches Abwägen der entsprechenden Menge Baryumhydroxyd geschehen kann, da das im Handel erhältliche Baryumhydroxyd stets Baryumcarbonat enthält. Man wägt deshalb roh ungefähr 5 g pro Liter ab, bringt dies mit der nötigen Menge destillierten Wassers in eine Flasche und schüttelt die Lösung um, bis die Krystalle völlig verschwunden sind. Die Flasche

wird dann gut verschlossen 2 Tage lang stehen gelassen, bis sich der Niederschlag von Baryumcarbonat, der zum Teil auch von der im destillierten Wasser vorhandenen Kohlensäure herrührt, gänzlich abgesetzt hat. Vor dem Abfüllen wird nun durch die Vorratsflasche während 2 Stunden ein kohlensäurefreier Luftstrom durchgeleitet, indem man *A* mit einer Luftpumpe verbindet und bei *B* anstatt des Natronkalkrohres Natronwaschflaschen vorsetzt. Wird dies nicht gemacht, so trübt sich die klare Barytlösung beim Einfließen sofort, was an und für sich zwar nicht schaden würde, indem der Titer erst nachher bestimmt wird, was wir aber vermeiden möchten, in dem uns später eine in der Vorratsflasche auftretende Trübung anzeigt, daß sich der Titer der Lösung verändert hat. Haben wir also die Vorratsflasche kohlensäurefrei gemacht, so wird nun Hahn *a* geschlossen und die Wasserpumpe bei *B* angesetzt, worauf die klare Barytlösung durch *C* hindurch abgehebert werden kann. Hierauf wird *c* geschlossen, bei *B* das Natronkalkrohr vorgesetzt und die Flüssigkeit in *A* aspiriert. Jetzt wird der Titer der Lösung bestimmt.

Beim Füllen der Pipette muß man vorher die im Endstück (*E*) am Ausfluß enthaltene Flüssigkeit, die mit der Außenluft in Berührung steht und folglich immer reichlich Carbonat enthält, abfließen lassen. Die Pipette muß aus den oben erwähnten Gründen beim Füllen vollständig trocken sein. Das Reinigen derselben, an deren Wänden sich nach Versuchen jeweilen ziemlich viel Carbonat absetzt, geschieht mit verdünnter Salzsäure, welche mit Brunnenwasser ausgewaschen wird; hierauf spült man mit destilliertem Wasser nach und läßt sie trocknen, oder falls man sie gleich wieder gebraucht, wird mit Alkohol und Äther getrocknet. Macht man mehrere Versuche hintereinander, so ist es natürlich angenehmer, zwei oder mehr gut kalibrierte Pipetten zur Verfügung zu haben.

Bei der Titration ist es angezeigt, zuerst die annähernd nötige Menge der Salzsäure zu bestimmen und im folgenden jeweilen diese Menge in das Erlenmeyerkölbchen zu geben; erst jetzt werden 10 ccm der Barytlösung abpipettiert und hinzugefügt und hierauf, nach Zusatz des Indicators (Phenolphthalein in 2- bis 3 $^{0}/_{00}$iger Lösung) zu Ende titriert. Dadurch wird die sonst durch das Umrühren bei der Titration eventuell mögliche Absorption von CO_2 aus der Umgebung verhindert.

Betreffs der Konzentration der Absorptionsflüssigkeit ist noch auf folgenden Punkt aufmerksam zu machen. Aus den Berechnungen ist leicht ersichtlich, daß bei Verwendung einer $^{n}/_{40}$-Normalbarytlösung bei gleicher Temperatur und Barometerstand ein Titrationsfehler von 1 Tropfen, was ungefähr $^{1}/_{20}$ ccm entspricht, eine Differenz von etwa 0,5 mm ausmacht. Um dieser ziemlich großen Fehlermöglichkeit einigermaßen zu begegnen, habe ich noch etwas schwächere Lösung ca. $^{1}/_{50}$-normal verwendet und damit gute Erfahrungen gemacht.

Ergebnisse mit Henderson-Russels Modifikation der Haldaneschen Methode.

Henderson und Russel haben ihre Modifikation der Haldaneschen Methode in erster Linie zu Unterrichtszwecken empfohlen. In ihrer Arbeit geben die beiden Forscher die Werte von 6 nach einer gewöhnlichen Inspiration ausgeführten Bestimmungen bei der Versuchsperson D. G. R. an, die eine Schwankung von 0,2 $^0/_0$ aufweisen. Im weiteren sind 2 vollständige Versuche angeführt, bei welchen die Bestimmungen sowohl mit dem Haldaneschen Apparate als mit der Barytmethode ausgeführt wurden, wobei die durch letztere erhaltenen Werte sehr schön mit denjenigen des Haldaneschen Apparates übereinstimmen. Längere Versuchsreihen sind anscheinend mit der Barytmethode noch keine ausgeführt worden, oder zum mindesten sind solche in der Literatur nicht angeführt. Die einfache technische Ausführung dieser Methode, sowie der Vorteil der Unabhängigkeit von komplizierten und kostspieligen gasanalytischen Apparaten, haben uns bewogen, ihre Verwendbarkeit für größere Versuchsreihen unter den im vorangehenden Abschnitte besprochenen Kautelen zu prüfen.

Unsere erste Aufgabe war also, zu untersuchen, innerhalb welcher Grenzen unter normalen Bedingungen die mit Hendersons Barytmethode erhaltenen Werte schwanken. Wir haben folglich bei verschiedenen Personen die alveolare CO_2-Spannung an mehreren Tagen unter sonst gleichen Versuchsbedingungen wiederholt bestimmt. Dabei wurde gemäß den in der Einleitung festgelegten Tatsachen darauf geachtet, daß die Versuche beim einzelnen um dieselbe Tageszeit ausgeführt wurden.

Die Versuchsbedingungen für die in Tabelle I bis V aufgeführten Resultate waren folgende: Sämtliche Versuchspersonen standen unter einer normalen gemischten Kost. Mit Ausnahme von Schw. (Tabelle II), die an einem ziemlich ausgeprägten Lungenemphysem leidet, waren alle völlig gesunde Individuen. Die Luftprobe wurde immer sitzend entnommen. Vor Beginn der Versuche wurde der Versuchsperson der Zweck der Übung genau erklärt.

Es hat sich nun auch bei uns gezeigt, daß eigentlich die einzige Schwierigkeit der sonst so einfachen Haldaneschen

Methode, worauf auch Hasselbalch (11) und Straub (6) besonders hinweisen, darin besteht, die Leute, obschon auf ihre Atmung aufmerksam gemacht, von einer willkürlichen Änderung derselben abzuhalten. Zwar hat eine Veränderung der Atemfrequenz, wie nachgewiesen werden konnte, auf die alveolare CO_2-Spannung keinen Einfluß, sofern die Atmung eine natürliche und ungezwungene ist, indem eine allfällige Erhöhung der Frequenz durch Verminderung der Tiefe wettgemacht wird. Um die Atmung besser kontrollieren zu können, hat Hasselbalch bei seinen Untersuchungen an Schwangeren dieselbe mit Atmungsgürtel und Kymographion registriert. Doch glaube ich, daß man auch ohne Registrierung auskommen kann, und zudem ist es fraglich, ob nicht viele Individuen durch den Atmungsgürtel eher noch mehr veranlaßt werden, ihre Atmung willkürlich zu beeinflussen. Ferner ist noch auf einen Punkt speziell aufmerksam zu machen. Es kommt besonders bei den ersten Versuchen häufig vor, daß bei der Aufforderung zur plötzlichen Exspiration in den Schlauch ganz unwillkürlich, wohl in der falschen Meinung, möglichst viel aus sich herausgeben zu müssen, unmittelbar vorher noch rasch eine Inspiration ausgeführt wird. Dies muß selbstverständlich zu unrichtigen Werten führen. Aus diesen Gründen habe ich es vorgezogen, die Ausatmung nicht auf Kommando ausführen zu lassen, sondern es der Versuchsperson anheimgestellt, ganz nach ihrem Gutdünken, sobald die Atmung als natürlich und ungezwungen empfunden wird, die Exspiration auszuführen. Natürlich muß der Vorgang genau beobachtet werden. Es ist zuzugeben, daß man bei Haldanes Methode in ziemlich hohem Grade von der Intelligenz der Versuchspersonen abhängig ist; scheut man aber die Mühe nicht, diese stets gründlich über den Versuch aufzuklären und sie besonders vor dem letztbesprochenen Fehler zu warnen, so wird man gewöhnlich sein Ziel erreichen. Es mag gleich hier erwähnt werden, daß uns die Angabe von Straub, unter normalen Bedingungen Werte zu erhalten, die durchschnittlich eine Schwankungsbreite von nur etwa 1 mm aufweisen, in Anbetracht dieser Schwierigkeiten etwas unwahrscheinlich erscheint. Unsere Versuche wurden also folgendermaßen ausgeführt: Die ruhig dasitzende Versuchsperson, sich völlig selbst überlassen, wurde unauffällig

auf ihre Atmung beobachtet; nachdem sie nach einer normalen Inspiration resp. Exspiration eine rasche und tiefe Ausatmung in den Schlauch ausgeführt und das Mundstück mit der Zunge rasch verschlossen, wurde die Luftprobe gewonnen.

Die in den folgenden Tabellen zusammengestellten Bestimmungen wurden mit Ausnahme der Werte vom 3. III. 16, an welchem Tage der auffallend niedrige Druck von 694 mm

Tabelle I.

Versuchsperson F.

	Alveol. CO_2-Spannung (mm Hg)						CO_2-%					
	H-In		H-Ex		Mittelwert		H-In		H-Ex		Mittelwert	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
11. I. 16	39,1	39,1	43,6	42,5	41,3	40,8	5,89	5,89	6,58	6,41	6,23	6,15
14. I. 16	39,0	40,3	42,2	41,9	40,6	41,1	5,83	6,01	6,29	6,25	6,06	6,13
21. I. 16	41,0	38,8	42,4	41,5	41,7	40,2	6,21	5,88	6,43	6,29	6,32	6,08
3. II. 16	39,5	37,5	45,4	40,8	42,4	39,2	5,93	5,61	6,80	6,12	6,36	5,87
4. II. 16	40,5	38,9	43,2	42,0	41,9	40,5	6,16	5,94	6,59	6,42	6,37	6,18
s[1])	2,0	2,8	3,2	1,7	1,8	1,9	0,38	0,40	0,51	0,30	0,31	0,51
S	3,5		4,6		3,2		0,60		0,68		0,50	

Durchschnittliche Spannung bei a: 41,5 mm,
" " " b: 40,2 mm.

Tabelle II.

Versuchsperson Sch.

	Alveol. CO_2-Spannung (mm Hg)						CO_2-%					
	H-In		H-Ex		Mittelwert		H-In		H-Ex		Mittelwert	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
23. II. 16	46,4	46,4	49,8	49,8	48,1	48,1	7,05	7,05	7,56	7,56	7,31	7,31
24. II. 16	46,4	46,4	46,4	47,5	46,4	46,9	7,05	7,05	7,05	7,22	7,05	7,13
17. III. 16	43,7	48,2	44,8	50,4	44,3	49,3	6,56	7,24	6,73	7,57	6,65	7,41
s	2,7	1,8	5,0	2,9	3,8	2,4	0,49	0,19	0,83	0,35	0,66	0,28
S	4,5		5,6		5,0		0,68		0,84		0,76	

Durchschnittliche Spannung bei a: 46,2 mm,
" " " b: 48,1 mm.

[1]) Die Werte unter „s" bedeuten die Schwankungsbreite bei gleicher Bestimmungszeit; diejenigen unter „S" stellen die totale Schwankungsbreite dar.

Tabelle III.

Versuchsperson A.

	Alveol. CO_2-Spannung (mm Hg)						CO_2-%					
	H-In		H-Ex		Mittelwert		H-In		H-Ex		Mittelwert	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
3. IV. 16	38,8	—	39,9	—	39,4	—	5,83	—	5,99	—	5,91	—
4. IV. 16	42,1	40,0	42,1	43,2	42,1	41,6	6,32	6,00	6,32	6,49	6,32	6,24
5. IV. 16	40,7	39,5	42,9	41,8	41,8	40,7	6,14	5,97	6,48	6,31	6,31	6,14
s	3,3	0,5	3,0	1,4	2,7	0,9	0,49	0,03	0,49	0,18	0,41	0,10
S	3,3		3,3		2,7		0,49		0,50		0,41	

Durchschnittliche Spannung bei a: 40,8 mm,
" " " b: 41,2 mm.

Tabelle V.

Versuchsperson M.

	Alveol. CO_2-Spannung (mm Hg)						CO_2-%					
	H-In		H-Ex		Mittelwert		H-In		H-Ex		Mittelwert	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
12. IX. 16	39,9	38,8	43,2	41,0	41,6	39,9	5,97	5,81	6,47	6,14	6,22	5,97
13. IX. 16	40,1	39,5	42,3	42,3	41,2	40,9	6,00	5,91	6,33	6,33	6,16	6,12
15. IX. 16	38,3	37,7	41,6	41,0	40,0	39,4	5,73	5,65	6,23	6,15	5,98	5,90
16. IX. 16	39,9	—	41,5	—	40,8	—	5,95	—	6,20	—	6,08	—
17. IX. 16	40,4	37,7	43,2	43,2	41,8	40,5	6,03	5,62	6,44	6,44	6,24	6,03
s	2,1	1,8	1,7	2,2	1,8	1,5	0,30	0,26	0,27	0,30	0,26	0,22
S	2,7		2,2		2,4		0,38		0,33		0,34	

Durchschnittliche Spannung bei a: 40,9 mm,
" " " b: 40,1 mm.

herrschte, bei einem Barometerstand von 702 bis 720 mm ausgeführt. Die Temperaturen schwankten zwischen 15 und 20°.

Um die Resultate mit solchen der ursprünglichen Haldaneschen Methode besser vergleichen zu können, sind sowohl die Spannungswerte in mm Hg, als auch die Prozentsätze angegeben, da in den früheren hierhin gehörenden Arbeiten gewöhnlich nur einer der beiden Werte angegeben ist. Die in den Tabellen mit a, b und c bezeichneten Rubriken entsprechen den gleichen Bestimmungszeiten bei der einzelnen Versuchsperson.

Tabelle IV.

Versuchsperson J.

	Alveolare CO_2-Spannung in mm Hg									CO_2-%								
	H-In			H-Ex			Mittelwert			H-In			H-Ex			Mittelwert		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
[1]) 21. I. 16	—	—	35,6	—	—	41,3	—	—	38,5	—	—	5,39	—	—	6,25	—	—	5,82
[1]) 8. II. 16	35,0	35,0	—	42,8	41,7	—	38,8	38,4	—	5,26	5,26	—	6,44	6,27	—	5,85	5,77	—
28. II. 16	39,6	39,6	—	42,9	40,8	—	41,3	40,2	—	6,02	6,02	—	6,53	6,20	—	6,27	6,11	—
1. III. 16	38,1	—	38,6	42,0	—	40,9	40,1	—	39,8	5,83	—	5,92	6,43	—	6,25	6,13	—	9,09
3. III. 16	39,4	37,7	—	42,7	38,8	—	41,0	38,3	—	6,10	5,85	—	6,63	6,02	—	6,36	5,93	—
8. III. 16	40,3	—	—	43,3	—	—	41,8	—	—	6,14	—	—	6,59	—	—	6,37	—	—
9. III. 16	39,2	—	37,4	43,7	—	41,0	41,5	—	39,2	5,96	—	5,70	6,65	—	6,25	6,30	—	5,97
7. VIII. 16	—	38,2	38,2	—	39,5	38,2	—	38,9	38,2	—	5,72	5,72	—	5,90	5,72	—	5,81	5,72
8. VIII. 16	—	38,2	37,2	—	39,4	39,4	—	38,8	38,3	—	5,71	5,61	—	5,89	5,89	—	5,80	5,75
10. VIII. 16	—	38,2	—	—	38,2	—	—	38,2	—	—	5,70	—	—	6,70	—	—	5,70	—
11. VIII. 16	40,1	—	—	43,9	—	—	42,0	—	—	6,01	—	—	6,54	—	—	6,27	—	—
15. VIII. 16	37,4	—	—	40,8	—	—	39,1	—	—	5,61	—	—	6,10	—	—	5,85	—	—
21. VIII. 16	38,4	—	—	41,2	—	—	39,8	—	—	5,75	—	—	6,16	—	—	5,95	—	—
23. VIII. 16	39,9	—	—	40,9	—	—	40,4	—	—	5,98	—	—	6,13	—	—	6,05	—	—
25. VIII. 16	39,0	—	—	40,1	—	—	39,5	—	—	5,86	—	—	6,03	—	—	5,95	—	—
28. VIII. 16	—	39,2	40,3	—	41,4	40,3	—	40,3	40,3	—	5,88	6,04	—	6,22	6,04	—	6,04	6,04
11. IX. 16	41,2	—	—	42,3	—	—	41,8	—	—	6,18	—	—	6,35	—	—	6,26	—	—
12. IX. 16	41,0	—	—	43,2	—	—	42,1	—	—	6,14	—	—	6,47	—	—	6,30	—	—
14. IX. 16	39,5	39,5	37,9	40,1	40,1	39,5	39,8	39,8	38,7	5,93	5,93	5,68	6,01	6,01	5,93	5,97	5,97	5,80
16. IX. 16	41,0	—	—	43,2	—	—	42,1	—	—	6,12			6,45	—	—	6,29	—	—
s	3,8	1,9	3,1	3,8	3,2	2,8	3,0	2,1	2,1	0,57	0,32	0,43	0,64	0,52	0,55	0,52	0,41	0,37
S	4,0			5,7			3,9			0,59			0,95			0,67		

Durchschnittliche Spannung bei a: 40,6 mm, bei b: 39,2 mm, bei c: 39,2 mm.

[1]) Die Differenzen zwischen den inspiratorischen und den exspiratorischen Werten vom 21. I. und 8. II. (5,7; 7,8 und 6,7) sind entschieden zu hoch, daher zweifelhaft und für die Bestimmung der Schwankungsbreite deshalb außer acht gelassen worden; da diese aber immerhin annehmbare Mittelwerte ergaben, wurden sie dennoch angeführt.

Bevor wir zum Vergleiche unserer Resultate mit denjenigen der ursprünglichen Haldaneschen Methode schreiten, möchte ich auf folgenden Punkt aufmerksam machen. Die in der Rubrik a aufgeführten Werte sind bei der Versuchsperson J. (Tabelle IV) 2 Stunden nach Einnahme der Mittagsmahlzeit, diejenigen unter b und c 3 und 4 Stunden nachher bestimmt worden, während bei F. (Tabelle I) die Werte unter a $2^1/_2$ bis 3, die unter b 4 Stunden nach Nahrungsaufnahme gewonnen wurden. Wir finden unter a Werte, die durchschnittlich 1 mm höher liegen als diejenigen unter b oder c. Darin erkennen wir eine weitere Bestätigung der schon bekannten Tatsache, daß die alveolare CO_2-Spannung im Beginne der Magenverdauung erhöht befunden wird.

Betrachten wir nun zuerst die Schwankungsbreite sämtlicher erhaltener Mittelwerte, so sehen wir, daß diese bei den Versuchspersonen F., A., J. und M. zwischen 2,4 und 3,9 mm oder 0,34 bis 0,67 $^0/_0$ schwankt. Nur Schw. weist den bedeutend höheren Wert von 5,0 mm oder 0,76 $^0/_0$ auf; wie schon erwähnt, handelt es sich hier um einen Emphysematiker, und es ist zuzugeben, daß die Entnahme der Luftprobe hier etwas schwierig war. Interessant ist bei Schw. die außerordentlich hohe Spannung, durchschnittlich 47 mm, was nach der von Porges und seinen Mitarbeitern vertretenen Anschauung als Zeichen einer sogen. reinen pulmonalen Dyspnoe zu deuten wäre. Vergleichen wir diese Resultate mit den Angaben von Haldane und Priestley (1) in ihrer Originalarbeit. Dort zeigt S. S. H. eine Schwankungsbreite seiner Mittelwerte von 0,47 $^0/_0$, während J. C. P. eine solche von 0,85 $^0/_0$ aufweist. Bei dem dort angegebenen mittleren Barometerstande würde dies bei S. S. H. ungefähr 3,3 mm und bei J. C. P. ca. 6,0 mm entsprechen. Diese auffallend hohe Schwankung bei letzterem ist wohl darauf zurückzuführen, daß die Bestimmungen zu sehr verschiedenen Tageszeiten ausgeführt wurden. Nähere Angaben darüber sind nicht zu finden. Wir sehen also, daß unsere Resultate sich völlig mit diesen Angaben decken. Betrachten wir nun die Schwankungsbreite der Mittelwerte bei gleicher Bestimmungszeit, was natürlich den wesentlichen Faktor für die Beurteilung der Genauigkeit der Barytmethode darstellt. Ich habe zu diesem Zwecke die bei unseren Versuchen erhaltenen Schwan-

kungsbreiten in der folgenden Tabelle den entsprechenden Werten gegenübergestellt, wie sie aus früheren Arbeiten bei Versuchen unter normalen Bedingungen und bei gleicher Bestimmungszeit herauszulesen sind. Porges (8) Versuche wurden allerdings nicht mit Haldanes, sondern mit Pleschs Methode, die aber ebenfalls eine direkte Methode darstellt, ausgeführt. Da es sich jedoch hier nur um die Schwankungsbreite und nicht die absoluten Werte handelt, so können wir dieselben ruhig als Vergleichswerte benützen, ja sie leisten uns vielleicht sogar noch mehr Garantie zur Beurteilung unserer Resultate.

Tabelle VI.
Schwankungsbreiten bei gleicher Bestimmungszeit.

Nach Haldane und Plesch			Nach Henderson		
	mm Hg	CO_2-%		mm Hg	CO_2-%
Higgins:					
H.	3,4	—	F.	1,8; 1,9	0,31; 0,31
M.	1,8	—	Schw.	3,8; 2,4	0,66; 0,28
Straub: H. S.	0,8; 1,1	—	A.	2,7; 0,9	0,41; 0,10
Hasselbalch:			J.	3,0; 2,1	0,52; 0,41
K. A. H.	1,8; 0,5	—	M.	1,8; 1,5	0,26; 0,22
Porges:					
Schw. H.	—	0,27 —			
Schw. Ing.	—	0,76; 0,59			
Schw. L.	—	0,16; 0,44			
M. F.	—	0,86; 0,39			

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, liegen also auch hier unsere Werte völlig innerhalb normaler Grenzen.

Was nun noch die Differenzen zwischen den inspiratorischen und den exspiratorischen Werten betrifft, so sehen wir aus Tabelle I bis V, daß der exspiratorische Wert im allgemeinen 1 bis 3,5 mm höher liegt; selten findet man Differenzen bis zu 5 mm. Auch dieser Befund stimmt mit den Angaben in früheren Arbeiten. So zeigt bei Haldane und Priestley S. S. H. eine solche von 0,43%, und bei J. C. P. sind die höchsten Differenzen 0,60 und 0,79%, was Werten von ungefähr 3, 4 und 5,5 mm entspricht; bei Hasselbalch [11] weist K. A. H. eine maximale Differenz von 3,2 mm auf. Unterschiede von mehr als 5 mm sind demnach als zweifelhaft anzusehen.

Nachdem einmal festgestellt war, daß uns die Barytmethode unter normalen Bedingungen völlig richtige Werte der alveolaren CO_2-Spannung liefert, stellten wir uns die Aufgabe, das

Verhalten der CO_2-Spannung nach Verabreichung therapeutischer Dosen von Medikamenten, die die Erregbarkeit des Atemzentrums beeinflussen, zu beobachten. Die lähmende Wirkung des Morphins auf das Atemzentrum ist eine längst bekannte Tatsache, und es sind denn auch von Beckmann [7] mit Haldanes Methode nach Verabfolgung von Morphin (sowie übrigens auch nach Veronal) ganz deutliche Steigerungen der alveolaren CO_2-Spannung nachgewiesen worden, was nichts anderes als eine Erhöhung des Schwellenwertes bedeutet.

Demgegenüber sind allerdings Porges, Leimdörfer und Marcovici [9] der Ansicht, daß Veränderungen der CO_2-Spannung, wie sie durch Erregbarkeitsveränderungen des Atemzentrums hervorgerufen sind, so klein seien, daß dieselben noch in die normale Schwankungsbreite fallen. Die unten angeführten Versuche scheinen nun aber doch dafür zu sprechen, daß der Einfluß immerhin ein intensiverer ist, als die genannten Autoren annehmen. Erwähnt sei noch, daß eine Veränderung der H-Ionenkonzentration durch die von uns benutzten Medikamente kaum anzunehmen ist. Wir haben bei unseren Versuchen Pantopon verwendet und ferner einen Kontrollversuch mit Morphin ausgeführt. Das Morphin wurde als Pulver in einer Dosis von 0,01 g per os verabfolgt.

Morphin-Versuch.

28. VIII. 1916. Versuchsperson J. Mittelwert: 39,2 [± 1,1][1]).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	40,3	6,04	
1/2 Std. nach „	39,7	5,96	
1 „ „ „	41,8	6,28	
1 1/2 „ „ „	42,9	6,44	+ 2,6 mm
2 „ „ „	—	—	
2 1/4 „ „ „	40,9	6,14	

In diesem Versuche sehen wir nach einer anfänglichen geringen Senkung eine maximale CO_2-Spannung von 42,9 mm nach 1 1/2 Stunden auftreten, was einer Steigerung von 2,6 mm

[1]) In den folgenden Tabellen ist als Mittelwert die durchschnittliche normale Spannung für die entsprechende Bestimmungszeit angegeben; die in der Klammer angeführte Zahl deutet die Schwankungsbreite an, also 39,2 $\begin{matrix} + 1,1 = 40,3 \\ - 1,1 = 38,1 \end{matrix}$; vgl. Tabelle IV, Rubrik c.

entspricht. Bei einem durchschnittlichen Normalwert von 39,2 mm und einer Schwankungsbreite 2,1 ist eine Erhöhung von 2,6 mm sicherlich als eindeutiges Resultat anzuerkennen, besonders wenn dabei Werte erreicht werden, wie sie unter normalen Bedingungen nie gefunden worden sind. Vergleichen wir damit Beckmanns Versuch [7], der eine Steigerung von 4 mm gefunden, wo aber das Maximum erst nach verschiedenen Remissionen im Verlaufe von $2^1/_2$ bis 3 Stunden eingetreten ist, so ist zu betonen, daß er das Morphin in einer Dosis von 0,02 g subcutan verabfolgte, wobei 50 Minuten nach der Injektion eine stark ausgesprochene Nausea aufgetreten ist. Bei obigem Versuche trat nach ca. 30 Minuten nur starkes Müdigkeitsgefühl auf, begleitet von einer ganz leichten Benommenheit; eine eigentliche Nausea mit Schweißausbruch oder sogar Erbrechen trat auch später nicht ein, wie es von einer therapeutischen Dosis zu erwarten ist.

Der nun folgende Pantoponversuch 1 ist der einzige, der bei subcutaner Verabfolgung (0,02 g) ausgeführt wurde. Hier stellte sich nach der ersten halben Stunde eine beträchtliche Senkung ein; die Versuchsperson zeigte dabei die Erscheinungen einer leichten Nausea, Übelkeit, geringer Schweißausbruch, und hat auch wenig erbrochen. Nach $1^1/_4$ Stunden nun trat eine starke Erhöhung der Spannung auf, die nach 2 Stunden immer noch anhielt.

Pantopon-Versuch 1.

8. III. 1916. Versuchsperson J. Mittelwert: 40,6 (± 1,5).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	41,8	6,33	
$^1/_2$ Std. nach "	39,1	5,92	
1 " " "	—	—	+ 2,4 mm
$1^1/_4$ " " "	44,1	6,71	
2 " " "	44,2	6,73	
$2^1/_4$ " " "	—	—	

Bei den übrigen Pantoponversuchen wurde dieses in einer Dosis von 0,02 g per os verabreicht und zwar, um dieselben Resorptionsbedingungen wie beim Morphin zu schaffen, ebenfalls in Pulverform. Mit Ausnahme von Versuch 4, der die unbedeutende Steigerung von 0,6 mm aufweist, zeigen alle einen deutlichen Ausschlag von 2 bis 2,5 mm.

Pantopon-Versuch 2.

21. VIII. 1916. Versuchsperson J. Mittelwert: 40,6 (± 1,5).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	39,8	5,95	
1/2 Std. nach "	41,7	6,25	
1 " " "	—	—	
1 1/4 " " "	42,3	6,32	+ 2,5 mm
2 " " "	38,2	5,71	
2 1/4 " " "			

Pantopon-Versuch 3.

23. VIII. 1916. Versuchsperson J. Mittelwert: 40,6 (± 1,5).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	40,4	6,05	
1/2 Std. nach "	41,7	6,25	
1 " " "	—	—	
1 1/4 " " "	42,6	6,37	+ 2,2 mm
2 " " "	39,5	5,92	
2 1/2 " " "	38,7	5,80	

Pantopon-Versuch 4.

12. IX. 1916. Versuchsperson J. Mittelwert: 40,6 (± 1,5).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	42,1	6,30	
1/2 Std. nach "	—	—	
1 " " "	41,3	6,18	
1 1/2 " " "	41,6	6,22	+ 0,6 mm
2 " " "	42,7	6,39	
2 1/2 " " "	40,7	6,10	

Bei Versuch 4 ist aber wohl der Fehler begangen worden, daß er in zu rascher Folge auf einen anderen Versuch mit einem Narkoticum ausgeführt wurde. Bei den übrigen Versuchen sehen wir das Maximum nach 1 bis 1 1/2 Stunden eintreten, worauf aber stets ein ziemlich rapider Abfall folgt. Sehr rasch reagierte Versuchsperson M. (5), wo schon nach einer halben Stunde beinahe das Maximum erreicht ist; leider ist hier eine Bestimmung durch Ungeschick bei der Filtration verloren gegangen. Wir sehen, daß auch hier die Maxima stets Werte darstellen, wie sie unter normalen Bedingungen nie gefunden werden.

Pantopon-Versuch 5.

13. IX. 1916. Versuchsperson M. Mittelwert: 40,1 (± 0,8).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	40,9	6,12	
1/2 Std. nach "	42,9	6,41	
1 " " "	—	—	
1 1/4 " " "	43,0	6,42	+ 2,1 mm
2 " " "	39,2	5,86	
2 1/2 " " "	—	—	

Aus diesen Versuchen geht also hervor, daß durch Morphin und Pantopon eine deutliche, nachweisbare Erhöhung des Schwellenwertes der arteriellen CO_2-Spannung verursacht wird.

Eine interessante Überprüfung unserer Versuche konnten wir nun mit Hilfe eines Präparates, das uns von der Gesellschaft für chemische Industrie in Basel zur Verfügung gestellt worden ist, ausführen. Es handelt sich hier ebenfalls um ein Präparat der Opiumalkaloide (mit dem Namen „Pavon-Ciba" belegt), das bei gleicher narkotischer Wirkung wie Pantopon eine bedeutend weniger lähmende Wirkung auf die Atmung haben soll. Das Pavon wurde in den unten angeführten Versuchen in derselben Dosis wie das Pantopon (0,02 g) per os in Pulverform verabfolgt. Die subjektiven Wirkungen waren dieselben wie bei Einnahme von Pantopon, nach ungefähr einer halben Stunde befiel die Versuchsperson eine ziemliche Mattigkeit, leichtes Benommensein, sowie ein Gefühl der Schwere in den Gliedern.

Während in Versuch 1 sogar eine kleine Senkung von 1,0 mm eingetreten ist, auf die wir zwar kein besonderes Gewicht legen wollen, zeigen die anderen Versuche allerdings eine Erhöhung der Spannung, die aber überall so gering ist, daß sie sich vollständig innerhalb der normalen Schwankungsbreite bewegt.

Pavon-Versuch 1.

10. VIII. 1916. Versuchsperson J. Mittelwert: 39,2 (± 1,1).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	38,2	5,70	
1/2 Std. nach "	37,2	5,52	
1 " " "	—	—	
1 1/4 " " "	37,7	5,64	— 1,0 mm
2 " " "	37,7	5,54	
2 1/2 " " "			

Pavon-Versuch 2.

11. VIII. 1916. Versuchsperson J. Mittelwert: 40,6 (± 1,5).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	42,0	6,27	
1/2 Std. nach „	42,2	6,28	
1 „ „ „	—	—	
1 1/4 „ „ „	42,3	6,30	+ 0,3 mm
2 „ „ „	41,7	6,20	
2 1/2 „ „ „			

Pavon-Versuch 3.

11. IX. 1916. Versuchsperson J. Mittelwert: 40,6 (± 1,5).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	41,8	6,26	
1/2 Std. nach „	41,2	6,18	
1 „ „ „	42,1	6,30	
1 1/2 „ „ „	42,1	6,30	+ 0,3 mm
2 „ „ „	40,4	6,07	
2 1/2 „ „ „			

Pavon-Versuch 4.

16. IX. 1916. Versuchsperson M. Mittelwert: 40,9 (± 0,9).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	40,8	6,08	
1/2 Std. nach „	40,2	5,99	
1 „ „ „	41,3	6,1[illegible]	
1 1/2 „ „ „	41,5	6,18	+ 0,7 mm
2 „ „ „	39,4	5,87	
2 1/2 „ „ „			

Pavon-Versuch 5.

17. IX. 1916. Versuchsperson M. Mittelwert: 40,1 (+ 0,9).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	40,5	6,03	
1/2 Std. nach „	40,2	5,99	
1 „ „ „	40 8	6,07	
1 1/2 „ „ „	41.6	6,[illegible]0	+ 1,1 mm
2 „ „ „	39,9	5,98	
2 1/2 „ „ „			

Nach Vergleich dieser Resultate mit denjenigen der Pantoponversuche dürfen wir also sagen, daß das Pavon zum mindesten eine minimale lähmende Wirkung auf das Atemzentrum ausüben muß.

Es ist nun im weiteren versucht worden, auch eine auf pharmakologischer Wirkung beruhende Verminderung der alveolaren CO_2-Spannung nachweisen zu können. Zu diesem Zwecke haben wir zuerst Experimente mit Campher angestellt. Dieser wurde als Emulsion in einer Dosis von 0,2 g per os verabreicht. Wie die beiden unten angeführten Versuche aber zeigen, ist eigentlich gar keine Wirkung zu erkennen, und es liegt die Vermutung nahe, daß wir es hier mit einer ähnlichen Erscheinung wie derjenigen der erregenden Wirkung des Camphers auf die Herztätigkeit zu tun haben, wo diese erst beim krankhaft geschwächten Herzen deutlich zum Ausdruck kommt.

Campher-Versuch 1.

15. VIII. 1916. Versuchsperson J. Mittelwert: 40,6 (± 1,5).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	39,1	5,85	
1/2 Std. nach "	39,2	5,87	
1 " " "	—	—	
1 1/4 " " "	38,2	5,71	— 0,9 mm
2 " " "	38,8	5,80	
2 1/2 " " "	40,4	6,05	

Campher-Versuch 2.

25. VIII. 1916. Versuchsperson J. Mittelwert: 40,6 (± 1,5).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	39,5	5,95	
1/2 Std. nach "	40,1	6,03	
1 " " "	40,2	6,05	
1 1/4 " " "	40,1	6,03	+ 0,7 mm
2 " " "	40,1	6,03	
2 1/2 " " "	—	—	

Nun hat Beckmann [7] bei Versuchen nach Alkoholgenuß eine lähmende Wirkung derselben auf die Atmung nachgewiesen, indem er noch nach ungefähr 5 Stunden eine Erhöhung der CO_2-Spannung von 1,5 mm gefunden. Das Excitationsstadium wurde von ihm aber nicht untersucht, da dasselbe sich nicht innerhalb des Laboratoriums abspielte. Wir haben deshalb Versuche über die Wirkung des Alkohols

im Excitationsstadium ausgeführt und ganz überraschend große Ausschläge gefunden. Nachdem der Normalwert bei der Versuchsperson bestimmt war, genoß dieselbe in einem Zeitraume von ungefähr 20 Minuten 2 dcl eines schweren Rotweines, und wie aus den Tabellen zu entnehmen ist, war die

Alkohol-Versuch 1.

15. IX. 1916. Versuchsperson M. Mittelwert: 40,1 (± 0,8).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	39,4	5,90	
1/2 Std. nach "	38,3	5,73	
1 " " "	34,4	5,15	– 5,0 mm
1 3/4 " " "	38,8	5,82	
2 " " "	—	—	
2 1/2 " " "	—	—	

Alkohol-Versuch 2.

16. IX. 1916. Versuchsperson J. Mittelwert: 40,6 (± 1,5).

Zeit	CO_2-Spg. mm Hg	%	Ausschlag
Vor Einnahme	42,1	6,29	
1/2 Std. nach "	38,5	5,75	
1 " " "	39,6	5,92	– 3,6 mm
1 3/4 " " "	41,0	6,12	
2 " " "	—	—	
2 1/2 " " "	—	—	

erregende Wirkung auf das Atemzentrum in beiden Versuchen eine sehr ausgesprochene, indem die CO_2-Spannung bei dem einen sehr rasch um 3,8 mm gesunken, beim anderen, allerdings erst im Verlaufe von 1 Stunde, um 5 mm Hg. Die erregende Wirkung von Alkohol in kleinen Dosen auf das Atemzentrum scheint also eine ganz beträchtliche zu sein, doch hält diese, wie sich in beiden Versuchen zeigt, kaum mehr als $1^1/_2$ Stunde an, indem schon nach 2 Stunden ein rapider Anstieg sich geltend macht.

Zusammenfassung.

Die wesentlichen Resultate sind die nachfolgenden:

1. Die Methode von Haldane zur experimentellen Bestimmung der alveolären Kohlensäurespannung wurde in der

Modifikation von Henderson und Russel angewandt, um zu prüfen, ob an normalen Personen innerhalb längerer Perioden konstante Werte der alveolären Kohlensäurespannung erzielt werden konnten. Dies war der Fall.

2. Bei geübten Personen beträgt die Schwankungsbreite etwa 2 bis 3 mm Quecksilberdruck. Die Methode ist zwar klinisch verwertbar, aber nur für intelligente Patienten, da man nur bei diesen einen Atemtypus regelmäßig erhalten kann, der unter normalen Bedingungen Konstanz der alveolären Kohlensäurespannung innerhalb der genannten Grenzen verbürgt

3. Bei einem Fall von Emphysem wurden regelmäßig sehr hohe Werte der alveolären Kohlensäurespannung beobachtet.

4. Die Methode eignet sich ganz besonders, um veränderte Erregungszustände des Atemzentrums schnell und genau feststellen zu können. Als Mittel, das Atemzentrum zu hemmen, wurden Morphium und Pantopon benutzt. Therapeutische Dosen dieser Präparate gaben eine merkliche Steigerung der alveolären Kohlensäurespannung, wodurch die hemmende Wirkung derselben auf das Atemzentrum auf das deutlichste gezeigt wird. Interessanterweise gab das zur gleichen Reihe gehörende Präparat Pavon-Ciba in den gleichen therapeutischen Dosen und bei gleich starker Wirksamkeit keine Veränderung der alveolären Kohlensäurespannung, woraus folgt, daß es auf das Atemzentrum eine viel weniger hemmende Wirkung als die beiden erstgenannten Präparate besitzt.

5. Alkohol ließ sich in den von mir angewandten Dosen als erregendes Mittel des Atemzentrums nachweisen dadurch, daß die alveoläre Kohlensäurespannung unter seiner Wirkung merklich sank.

Literaturverzeichnis.

1. Haldane und Priestley, Journ. of Physiol. **32**, 1905.

2. Haldane und Poulton, Journ. of Physiol. **37**, 1908.

3. Haldane und Douglas, Ergebnisse der Physiol., **9**. Jahrgang.

4. Henderson und Russel, Americ. Journ. of Physiol. **29**, 1911 bis 1912.

5. Douglas, C. G., Die Regulation der Atmung beim Menschen. Ergebnisse der Physiol., **15**. Jahrgang.

6. Straub, Arch. f. klin. Med. **109**, 1913.

7. Straub, Beckmann, Erdt und Mettenleiter, Arch. f. klin. Med. 117, 1915.

8. Porges, Leimdörfer und Marcovici, Zeitschr. f. klin. Med. 73, 1911.

9. Dieselben, Zeitschr. f. klin. Med. 77, 1913.

10. Higgins, Americ. Journ. of Physiol. 34, 1914.

11. Hasselbalch und Gammeltoft, diese Zeitschr. 68, 1915.

12. Boycott und Haldane, Journ. of Physiol. 37, 1908.

13. Hasselbalch, diese Zeitschr. 46, 1912.

14. Hänni, Über die Wirkung des morphinfreien Pantopons. Bern 1916.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

36. Mitteilung.

Das Verhalten von schilddrüsenlosen, milzlosen, schilddrüsen- und milzlosen Tieren bei O_2-Mangel, zugleich ein Beitrag zur Theorie der Bergkrankheit.

Von

Hans Streuli.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 11. Februar 1918.)

Mit 1 Figur im Text.

Einleitung.

In dem System der Drüsen mit innerer Sekretion hat man einen Regulationsapparat gewisser Lebensvorgänge zu erblicken, der sich in der Wirksamkeit einer hemmenden Komponente einerseits und einer erregenden andererseits kund tut. Die Erkenntnis neuer Funktionen und wirksamer Prinzipien von Drüsen mit innerer Sekretion wächst in dieser Richtung stetig an. So ist es erst in jüngster Zeit Marcel Dubois[1]) im Laboratorium von Professor Asher in Bern gelungen, einen Antagonismus zwischen Schilddrüse und Milz, was die Wirkung auf die blutbildenden Apparate betrifft, nachzuweisen. Ebenfalls fanden G. Mansfeld und Friedr. Müller[2]) in Budapest erst in neuerer Zeit Anhaltspunkte, welche ihnen dafür zu sprechen schienen, daß die gesteigerte N-Ausscheidung bei O_2-Mangel die Folge einer erhöhten Schilddrüsenfunktion sei, und daß der Sauerstoffmangel an der Schilddrüse angreife.

Diese Resultate bestimmten mich, auf Anregung von Pro-

---

[1]) Diese Zeitschr. 82, 141, 1917.

[2]) Archiv f. d. ges. Physiol. 143.

fessor Asher einen neuen Weg einzuschlagen, um zu prüfen, ob die Schilddrüse wirklich als der Angriffsort des Sauerstoffmangels zu gelten habe; ferner zu untersuchen, ob sich ein Antagonismus zwischen Milz und Schilddrüse hinsichtlich des Verhaltens des Organismus auf Sauerstoffmangel nachweisen lasse.

Bevor ich auf die Besprechung der Versuchsanordnung eingehe, seien zur allgemeinen Orientierung noch einige Bemerkungen vorausgeschickt, speziell die Resultate der oben angeführten Arbeiten noch etwas näher besprochen. Es wird ferner notwendig sein, zu erklären zu versuchen, ob sich die bis jetzt erhaltenen Resultate, auf so verschiedenen Gebieten sie auch gefunden werden, von einem einheitlichen Gesichtspunkt aus betrachten lassen. Denn nur dadurch gewinnen sie an positivem Wert, wenn ihr Zusammenhang gedeutet werden kann.

Dubois zeigte, daß die Milzexstirpation bei eisenreich ernährten Tieren zu einer vorübergehenden Erhöhung des Hämoglobins und der Erythrocytenzahl führe; als Ursache sieht er einen direkten Reiz des Knochenmarks an. Als Hyperkompensation stelle sich mit der Zeit dann eine relative Lymphocytose ein. Die Entfernung der Schilddrüse dagegen bewirke eine geringe Abnahme der Erythrocytenzahl, während das Hämoglobin wesentlich auf der gleichen Höhe bleibe. Er führt dies auf eine latente Hemmung des erythroblastischen Systems zurück. Werden Milz und Schilddrüse zugleich weggenommen, so entstehe eine leichte Herabsetzung des Hämoglobins und eine verhältnismäßig bedeutendere Abnahme der Erythrocyten. Die Erscheinung trete nicht ein, wenn die Schilddrüse an einem früher entmilzten Tier weggenommen werde. Ursache: Der durch die Wegnahme der Milz bedingte Reiz im Sinne einer Erregung auf das Knochenmark besteht fort. Er zieht daraus den Schluß, daß zwischen Milz und Schilddrüse in bezug auf die Blutbildung eine Art Antagonismus bestehe; die Schilddrüse würde im Sinne einer Erregung, die Milz im Sinne einer Hemmung wirken.

Der Reiz des O_2-Mangels, hervorgerufen durch acqua amygdalarum amarum, bewirke bei Normaltieren eine kurzdauernde Abnahme von Hämoglobin und Erythrocytenzahl; Regeneration bis zur Norm. Beim milzlosen Tier sei der Sturz geringer und führe zu einer Regeneration über die Norm hinaus. Bei schilddrüsenlosen Tieren führe auch eine doppelte Dosis Cyanwasserstoff diese experimentelle Dyspnoe nicht herbei. Doppelt operierte Tiere reagieren wieder wie Normaltiere.

Ferner: Künstlich anämisch gemachte, milzlose Tiere erholen sich rascher als Normaltiere; dabei Überproduktion der Erythrocyten. Schilddrüsenlose Tiere dagegen beanspruchen eine längere Erholungszeit als Normaltiere, die Norm werde nicht mehr vollständig erreicht. Fehlen beide Organe, so gestalten sich die Verhältnisse wieder wie beim Normaltier.

Mansfeld und Friedr. Müller fanden: Die gesteigerte N-Ausscheidung infolge O_2-Mangels finde seine Ursache in der Reizung der Schilddrüse. Thyreoidektomierte Tiere zeigen keine Spur von gestei-

gertem Eiweißzerfall bei O_2-Mangel. Sie sehen darin den Beweis, daß der Angriffspunkt des Sauerstoffmangels die Schilddrüse sei. Als Erklärung stützen sie sich auf Mieschers Untersuchungen am Rheinlachs, in denen er zum Schluß kam, daß die Zellen des Organismus während der Anoxybiose auf Kosten fermentativer Spaltungen leben und auf diese Weise ihr Eiweiß preisgeben müssen. Die Zellen der Schilddrüse seien nun auf O_2-Mangel noch weit empfindlicher als die übrigen Zellen des Organismus. Dafür spreche auch die bedeutende Blutversorgung der Schilddrüse andern Organen gegenüber. Nun würden die Spaltungsprodukte des Eiweiß anderer Organe ausgeschieden oder weiter oxydiert, blieben also indifferent für den Stoffwechsel, während die anoxybiontischen Produkte der Schilddrüse den Eiweißumsatz des gesamten Organismus mächtig anzuregen imstande seien. Diese Spaltungsprodukte würden also die „wirksame Substanz der Schilddrüse" darstellen. Je größer nun die Hyperfunktion der Thyreoidea sei, also der O_2-Mangel als auslösendes Moment, desto mehr solcher Spaltungsprodukte würden entstehen.

Mansfeld und Müller gingen bei ihren Versuchen so vor, daß sie O_2-Mangel mittels Blausäure erzielten, ferner mittels Luftverdünnung durch Verbringen der Versuchstiere in einen Gasometer, der von Luft, mit Stickstoffgas 1 : 2 verdünnt, durchströmt wurde.

Mansfeld[1]) hat später auch behauptet, daß der Angriffspunkt der blutbildenden Wirkung des Höhenklimas ebenfalls in der Schilddrüse liege, da anämische Tiere ohne Schilddrüse ihren Verlust weit schlechter ergänzen können als Normaltiere. Er schreibt die Wirkung des Carnotschen Serums auch dem zu, daß es nur durch Vermittlung der Schilddrüse zur Wirkung komme, also auch an der Schilddrüse angreife. Er betrachtet demnach die Thyreoidea als einen Katalysator von Fermentreaktionen, dem die Fähigkeit zukomme, die reversiblen Fermentreaktionen in beiden Richtungen zu beschleunigen. Nach weiteren Untersuchungen kommt er schließlich zum Schluß, daß der Einfluß des O_2-Mangels auf die Schilddrüsenfunktion dahin zu formulieren wäre, daß die Thyreoidea auf kürzer dauernden O_2-Mangel oder auf den Anfang eines länger dauernden Mangels als Reiz mit Funktionssteigerung, auf länger bestehenden O_2-Mangel aber mit Einstellung oder Herabsetzung ihrer Funktion antworte, was Eiweißretention bedinge; dieses retinierte Eiweiß werde zum Aufbau roter Blutkörperchen verwendet.

Soviel über die Forschungsergebnisse, deren Kenntnis zum Verständnis des Ausgangspunktes der vorliegenden Arbeit notwendig ist. Das ganze Problem ist um so interessanter, als die totale Verschiedenheit in der Versuchsanordnung doch annähernd gleiche Resultate ergab. Freilich muß von vornherein darauf hingewiesen werden, daß wir mit der Mansfeldschen Anschauung

---

[1]) G. Mansfeld, Archiv f. d. ges. Physiol. 152.

über den Angriffspunkt des O_2-Mangels nicht einig gehen können; die Begründung wird später gegeben werden.

Im weiteren muß ich kurz auf eine Arbeit von E. Rippstein[1]) zu sprechen kommen, die er bei Prof. Asher durchführte. Aus seinen Untersuchungen folgt, daß die Sauerstoffverarmung das wesentliche Moment bei der Bergkrankheit sein dürfte. Ob nun die Symptome, die er an seinen Versuchstieren wahrnahm, als wirkliche Symptome der Bergkrankheit angesehen werden dürfen, sei dahingestellt. Die Tatsache genügt, daß es der O_2-Mangel allein sei, der die Symptome bewirke, daß der Atmosphärendruck dabei keine Rolle spiele.

Es war nun meine Aufgabe, unter der Leitung von Prof. Asher zu untersuchen, ob die von Dubois und Mansfeld gewonnenen Resultate weiter aufgeklärt werden könnten, besonders durch Berücksichtigung der Wechselwirkung zwischen Milz und Schilddrüse.

Versuchsanordnung, Methodik.

Um O_2-Mangel zu erzeugen, benutzte ich eine Wasserstrahlpumpe, die mit einer Vakuumglocke in Verbindung stand; ein Dreiweghahn *D* ermöglichte es, eine weitere Verbindung mit dem Manometer *M* und dem Ausfluß *A* zu erhalten. Als Vakuumraum *V* wurde eine Glasglocke verwendet, die, um luftdicht abzuschließen, auf einer geschliffenen, mit Fett eingeschmierten Glasplatte stand. In der Glasglocke war ein Thermometer *T* angebracht, ferner eine Schale *S* mit 30% Kalilauge zur Absorption der Atmungskohlensäure. Die Versuchstiere waren auf einem Drahtnetz, das auf der Schale mit der Absorptionsflüssigkeit befestigt war. Der Ausfluß *A* wurde durch Glasstopfen und Klemme luftdicht abgeschlossen. Die Versuchstiere wurden nun aufs Drahtnetz unter die Vakuumglocke gestellt, der Ausfluß *A* vollständig geschlossen, und der Dreiweghahn in Verbindung mit der Wasserstrahlpumpe *W*, dem Vakuumraum *V* und dem Manometer *M* gebracht. Dann wurde evakuiert durch Absaugen der Luft mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe. Da *V* mit *M* in Verbindung standen (durch den Dreiweghahn *D*), war es immer möglich, den herrschenden Druck in *V* am Manometer abzulesen. Zur Unterbrechung des Versuchs wurde *D* einfach so umgestellt, daß er nur noch mit *V* und *M* und *A* in Verbindung stand, nicht mehr mit *W*. (Denn ein Abstellen der Wasserstrahlpumpe, ohne *D* umzuschalten, hätte zur Folge gehabt, daß das Vakuum in *V* Wasser angesaugt hätte, ferner, daß Wasser auch ins Manometer gesaugt worden wäre.) Dann wurde der Glasstopfen bei *A* entfernt und die Klemme vorsichtig geöffnet. Auf diese Weise konnte langsam Luft wieder zugelassen werden. Daß dieses Luftzulassen vorsichtig und langsam vor sich gehen mußte, um

---

[1]) Erwin Rippstein, diese Zeitschr. 80.

die Versuchstiere durch zu schnellen Druckwechsel nicht zu schädigen, liegt auf der Hand.

Die Glasglocke war groß genug, um zwei bis drei Tiere aufzunehmen, ohne daß die Beobachtung derselben gelitten hätte. Denn ein gewisser Spielraum, den die Tiere während ihrer Symptome benötigten, mußte dennoch freigelassen werden. Diese Symptome, die Rippstein als

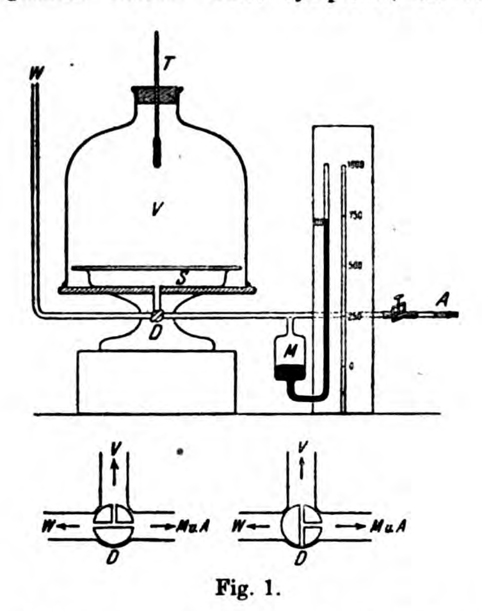


Fig. 1.

gleichbedeutend denjenigen der Bergkrankheit des Menschen annimmt, äußern sich darin, daß sich die Tiere zuerst an den nackten Körperstellen (Ohren, Mund, Füße) kratzen oder lecken. Dann wird die Atmung verändert (Frequenz, Tiefe); auch die Stellung der Tiere (Einnehmen von Orthopneu). Später werden die Tiere, die in gewöhnlicher Luft ruhig in Normalstellung dasitzen, unruhig, gehen erregt umher, und es folgt das wichtigste Endstadium: sie stehen auf den Hinterbeinen, schnappen nach Luft, fallen um und können sich nicht mehr auf den Beinen halten; dazu lassen sie Harn und Kot unter sich. Nach Rippsteins Untersuchungen, und darauf stützte ich mich, ist dieser Symptomkomplex nur der Ausdruck des O_2-Mangels; Druckverhältnisse spielen keine Rolle. Diese Tatsache wird durch die vorliegende Arbeit noch gefestigt, die mechanische Theorie der Bergkrankheit (Kronecker) widerlegt; ich verweise auf die spätere Besprechung der Versuche.

Wir können diesen Symptomkomplex als gewöhnliche Erstickungserscheinungen ansehen, ob sie wirkliche Bergkrankheitssymptome sind, spielt hier keine Rolle. Da tatsächlich nur der O_2-Mangel als auslösendes Moment in Betracht kommt, genügte es für meine Zwecke, beim Auftreten der Symptome den Manometerdruck abzulesen. Denn parallel

dem Sinken des Druckes ging auch die Abnahme des O_2-Gehaltes. Wie groß nun immer der genaue Sauerstoffgehalt der Luft war beim Eintreten der Symptome, war für meine Versuche absolut gleichgültig.

Als Versuchstiere benützte ich weiße Ratten. Diese Tiere eigneten sich erstens für die Operation sehr gut, ferner war es so möglich, mehrere Tiere zugleich unter die Glasglocke zu bringen und zu beobachten (infolge ihrer geringen Größe). Zweitens war es bei diesen Tieren möglich, die Schilddrüse total wegzunehmen und dabei wenigstens doch zwei Epithelkörperchen zu schonen. Ganz Sicheres über die Zahl und Lage dieser Epithelkörperchen kann zwar nicht gesagt werden; über Einzelheiten werde ich sogleich berichten. Ich kann nur bemerken, daß ich nie, mit einer einzigen Ausnahme, Tetanieerscheinungen beobachtet habe.

I. Versuche mit schilddrüsenlosen Tieren.

Die Operation.

Das Tier wurde mit Äther narkotisiert, aufgebunden und das Operationsfeld mit Jodtinktur desinfiziert. Daß mit sterilen Instrumenten und unter peinlichster Wahrung der A- und Antisepsis operiert werden mußte, versteht sich von selbst. — Medianschnitt am Halse, ca. 2 cm lang, Durchtrennung der Fascie längs, Wegschieben der großen Speicheldrüsen nach oben, Längsspaltung der Muskulatur. Zu beiden Seiten des Ringknorpels wurden so die Seitenlappen sichtbar, freilich nur als äußerst kleine Knötchen. (Der Isthmus besteht nur aus einem schleierartigen Gewebe.) Zwei nadelspitzgroße Pünktchen unterhalb der Thyreoidea auf der Trachea müssen als extrathyreoideal gelegene Epithelkörperchen angesehen werden. Diese wurden natürlich geschont. — Die beiden Seitenlappen wurden nun mit feinen Pinzetten gefaßt, unterbunden und abgetragen, der Isthmus, soweit er nicht von selbst mitkam, noch nachträglich abgekratzt. Dann fortlaufende Naht der Tiefenfascie, der Muskulatur, der Oberflächenfascie und der Haut. Wattetampon, Kollodiumpflaster. Bei sorgfältiger Unterbindung gelang die Operation ohne den geringsten Blutverlust. Die Heilung der Wunde erfolgte per primam nach 4 bis 6 Tagen. — Eine nachträgliche mikroskopische Untersuchung der exstirpierten Schilddrüse ergab, daß im Thyreoidealgewebe wieder zwei ganz kleine Pünktchen sichtbar waren, identisch mit denselben auf der Trachea. Es stellen diese Knötchen wohl die intrathyreoideal gelegenen Epithelkörperchen dar.

Versuche.

Um die Ergebnisse dann zusammenhängend besprechen zu können, ferner um eine klarere Übersicht zu geben, lasse ich nun die wichtigsten Protokolle ohne eingehende Diskussion folgen; in einem besonderen Kapitel wird dann den Ergebnissen und der Kritik Rechnung getragen werden müssen.

Zum besseren Verständnis der nun folgenden Tabellen sei vorausgeschickt, daß in denjenigen Intervallen, wo nichts bemerkt ist, die Tiere ruhig in Normalstellung dasaßen und nichts Bemerkenswertes darboten.

Tabelle I.

Versuch 3 vom 24. Mai 1917.

Gebraucht wird ein vor 6 Tagen thyreoidektomiertes Tier; die Wunde ist geheilt, ohne Komplikation. Ferner: Zwei Normaltiere. Alle 3 Ratten stammen vom selben Wurf, leben unter denselben Bedingungen und bekommen dieselbe Nahrung.

Dauer des Versuchs . . . . 25 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 711 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . 23°
Atemfrequenz der Normaltiere . . 80 und 79
" des operierten Tiers 79

Alle drei Tiere sitzen ruhig in Normalstellung beieinander.

Verhalten des operierten Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten der zwei Normaltiere
	550	Beide Tiere äußern kleine Unruhe, die Atmung ist tief, ruhig, die Frequenz normal.
	510	Die Unruhe wird größer, die Tiere gehen leicht erregt umher.
	480	Zum Beginn jeder Inspiration werden die seitlichen Thoraxwandungen und das Abdomen eingezogen, die Unruhe steigert sich (inspiratorische Einziehungen).
Sitzt mit fast geschlossenen Augen ruhig da, die Atmung ist wie beim Beginn des Versuchs.	450	Beide Tiere kratzen sich an den nackten Körperstellen, die Lidspalte wird weiter.
Öffnet die Augen, wechselt die Stellung.	400	Ein Normaltier steht auf den Hinterbeinen, die Erregung ist noch größer. Nach kurzer Zeit verhält sich auch das andere Tier so.
	330	Die Unruhe wird bei beiden noch größer, ein Tier fällt um, erhebt sich bei
	300	aber wieder. Nun gehen beide unruhig umher, die Atmung wird noch tiefer, dazu langsamer.
	280	Atmung noch langsamer, jedoch noch größere Unruhe.
Die Atmung ist etwas rascher, jedoch ganz gleichmäßig und ruhig. Das Tier sitzt in Normalstellung da, wie im Beginn des Versuchs.	220	Ziemlich gleichzeitig springen beide Tiere auf, fallen dann rücklings und bleiben liegen. Dabei lassen sie Kot und Urin unter sich. Die Atemfrequenz ist auffallend langsam, währenddem sie beim operierten Tier eher etwas rauher geworden ist. Beide Tiere haben äußerst weite Lidspalte.

Der Versuch wird nun unterbrochen, ich lasse also bei *A* Luft zu. Bald wird die Atmung bei beiden Normaltieren äußerst frequent, etwa zweimal so rasch wie beim operierten Tier; bei diesem ist sie wieder langsamer geworden, wie zum Beginn des Versuchs. Die zwei liegenden Normaltiere erheben sich bald wieder beim Luftzulassen. In Normalluft schließen sie die Augen und verfallen in schlafähnlichen Zustand. Dazu machen sie den Eindruck hochgradiger Ermüdung. Das operierte Tier dagegen wird in Normalluft nach 1 bis 2 Minuten lebhaft, geht umher und kratzt sich energisch am ganzen Körper.

Auffallend ist das ganz verschiedene Verhalten der Normaltiere und des operierten Tiers. Es macht dies doch den Eindruck, als ob das operierte Tier auf den O_2-Mangel fast gar nicht reagiere, selbst nicht in einem Stadium, wo Normaltiere dem Erstickungstod sehr nahe sind.

Tabelle II.

Versuch 5 vom 7. Juni 1917.

Gebraucht wird ein Normaltier und ein vor 20 Tagen operiertes Tier.

Dauer des Versuchs . . . . 23 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 719 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . 24°
Atemfrequenz des Normaltiers . . . 80
" " operierten Tiers . 82

Die Tiere sitzen in Normalstellung ruhig da.

Verhalten des operierten Tiers	[illegible] druck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
	600	Leichtes Schnüffeln, Unruhe.
	550	Die Atemfrequenz nimmt etwas zu.
Kratzt sich besonders an den hintern Extremitäten und an der Nase.	520	
	450	Das Tier legt seinen Kopf auf den Rücken des operierten Tiers; diese Stellung wird als Orthopnoe angesehen, ein Symptom, das in charakteristischer Weise zutage tritt. Dazu deutliche inspiratorische Einziehungen.
Sitzt ganz ruhig da, mit halbgeschlossenen Augen.	420	Die Atemfrequenz nimmt zu, ist etwa zweimal rascher als beim operierten Tier.
Die Atemfrequenz nimmt zu, wird dabei oberflächlicher, ist jedoch gleichmäßig und ruhig im Vergleich zum Normaltier.	410	

Verhalten des operierten Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
	400	Das Tier vermag nicht mehr in normaler Stellung zu bleiben, es legt sich seitlich.
	380	Nun tritt auffällige Dyspnoe ein, die Atemfrequenz wird kleiner, etwa wie beim operierten Tier; dafür ist sie sehr tief, dazu starke seitliche Einziehungen im Beginn jeder Inspiration.
	340	Vorübergehende Unruhe, die Atemfrequenz nimmt wieder zu, die Atemtiefe ebenfalls. Das Tier verweilt noch immer in Orthopnoe.
	330	Nun geht es schnüffelnd, ruckweise umher und fällt bei
Die Atmung wird etwas tiefer, ist aber ganz ruhig und von normaler Frequenz.	320	auf die Seite zu Boden. Dabei ist die Atemfrequenz auffallend rauh und die Atmung sehr tief.
Leichte Unruhe, geht umher, nimmt dann wieder Normalstellung ein, die Atmung ist ruhig, etwas frequent.	310	Die Atemfrequenz ist wieder ungefähr zweimal rascher als beim operierten Tier.
Die Atmung wird tiefer, bleibt jedoch ganz ruhig. Das Tier sitzt gleichgültig in Normalstellung da.	290	Versucht zu stehen, kann aber nicht. Es macht krampfartige Sprünge, sinkt dann jeweils wieder zusammen, ein Zeichen hochgradiger Dyspnoe.
	280	Die Atmung wird noch rascher, ganz oberflächlich, dazu Exophthalmus.
	250	Plötzlich schnellt das Tier auf, steht einige Augenblicke und kratzt sich, dann fällt es wieder. Die Atemfrequenz ist etwa zweimal rascher als beim operierten Tier. Das Tier liegt auf dem Bauch, streckt die Beine von sich, läßt Kot und Urin und bleibt so bis
Tiefe regelmäßige Atmung. Das Tier sitzt in Normalstellung ruhig da.	230	, wo die Atmung ganz zu erlahmen beginnt.

Nun wird der Versuch unterbrochen. Beim Normaltier wird die Atmung sehr frequent beim Luftzulassen, bei einem Druck von [illegible] mm Hg erhebt es sich wieder und bleibt in Normalstellung. In gewöhnlicher Luft sitzen beide Tiere in scheinbar gleichem Zustand da; nach 15 Minuten kratzt sich das operierte Tier, [illegible] umher. Das Normaltier schläft aber fort, mit tiefer, ruhiger Atmung.

Auch dieser Versuch ergibt, daß sich das schilddrüsenlose Tier bei einem Druck von 230 mm Hg ungefähr gleich verhält wie in Normalluft. Normaltiere dagegen zeigen bei solchen O_2-Reduktionen typische Erstickungserscheinungen.

Tabelle III.

Versuch 6 vom 7. Juni 1917.

Gebraucht wird ein anderes Normaltier und ein vor 20 Tagen thyreoidektomiertes Tier.

Dauer des Versuchs . . . . 23 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 719 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . 25°
Atemfrequenz des Normaltiers . . 68
" " operierten Tiers 84

Beide Tiere sitzen ruhig beisammen.

Verhalten des operierten Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
	605	Die Atmung wird tiefer.
Kurzes Schnüffeln.	600	
Die Atmung wird ziemlich frequent.	465	
	460	Das Tier wird unruhig, die Lidspalte erweitert sich.
	440	Es geht unruhig umher, legt seinen Kopf dann auf den Rücken des operierten Tiers. (Orthopnoe.) Auffällig sind die kurzen raschen Inspirationen.
	410	Geht wieder umher, fällt aber sogleich und bleibt auf dem Bauche liegen. Dabei Dyspnoe und starke inspiratorische Einziehungen.
Wird unruhig, geht umher und fällt ebenfalls. Dann erhebt es sich aber sogleich wieder und wird ruhig.	405	
	390	Steht wieder auf und kratzt sich.
	380	Läßt Kot unter sich und fällt beim Versuch, zu gehen, wieder hin.
Die Atemfrequenz nimmt etwas zu, leichte inspiratorische Einziehungen.	330	Die Lidspalte erweitert sich plötzlich, die Dyspnoe nimmt zu.
Sitzt in Normalstellung mit ruhiger Atmung still da, Augen normal offen.	310	Das Tier erhebt sich wieder, fällt aber sogleich von neuem und bleibt liegen. Es läßt dabei wieder Kot unter sich, schnappt nach Luft. Die Lidspalte erweitert sich noch mehr.

Hier wird der Versuch unterbrochen; das Normaltier erhebt sich bald wieder, dann schließen beide die Augen und verharren in schlafähnlichem Zustand.

Wie aus diesen Protokollen hervorgeht, ergeben sie alle gleichlautende Resultate. Die Frage war nun die, ob auch Versuche mit andern schilddrüsenlosen Ratten gleichlautend ausfallen.

Ferner könnte der Einwand gemacht werden, daß die Atmungskohlensäure einen Einfluß auszuüben imstande sei. Ich begegnete dem dadurch, daß ich einen Behälter mit 30 % Kalihydricumlösung unter die Glasglocke brachte; dadurch wurde die CO_2 immer absorbiert.

Tabelle IV.

Versuch 7 vom 8. Juni 1917.

Es werden gebraucht: Ein Normaltier und ein schilddrüsenloses Tier, operiert vor 2 Tagen. Zur CO_2-Absorption ist ein Behälter mit 30 % KOH angebracht.

Dauer des Versuchs . . . . 25 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 715 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . 23°
Atemfrequenz des Normaltiers . . 80
" " operierten Tiers 78

Beide Tiere sitzen ruhig mit halb geschlossenen Augen da.

Verhalten des operierten Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
	600	Die Atemfrequenz nimmt etwas zu.
	550	Sie ist etwa 2 mal rascher als beim operierten Tier.
	540	Das Tier wird unruhig, geht umher, die Atmung wird langsamer, aber zugleich tiefer, dazu deutliche inspiratorische Einziehungen.
Kratzt sich an den nackten Körperstellen, Atmung ruhig und normal.	490	Wiederum unruhiges Umhergehen.
	480	Dyspnoische, sehr frequente ruckweise Atmung, dazu starke inspiratorische Einziehungen. Orthopnoe bei dem operierten Tier.
Kratzt sich wieder.	460	
	430	Die Atemfrequenz ist etwa 3 mal rascher als beim operierten Tier. Dazu ist die Atmung sehr oberflächlich.
Geht umher, jedoch nicht so unruhig wie das Normaltier; dann kratzt es sich wieder.	420	
Atmung ganz ruhig, wie zum Beginn des Versuchs; kratzt sich wieder.	410	Die Atmung ist noch immer so frequent und noch immer so oberflächlich. Dazu noch Orthopnoe.
Geht plötzlich ziemlich unruhig umher.	350	
	340	Schnellt in die Höhe und fällt dann zu Boden und bleibt auf dem Bauche liegen. Starke Dyspnoe.

Verhalten des operierten Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Die Atemfrequenz nimmt zu, jedoch lange nicht so viel, wie beim Normaltier (ungefähr 120). Die Atmung wird zugleich tiefer, dazu leichte inspiratorische Einziehungen. Das Tier sitzt ruhig in Normalstellung da.	320	
Das Tier sitzt in Normalstellung ruhig da, mit gleichmäßiger noch immer frequenter Atmung.	310	**Es erhebt sich wieder, fällt aber sogleich von neuem und läßt Kot unter sich; dann schnellt es wieder auf, steht auf den Hinterbeinen, fällt rücklings und bleibt liegen, indem es nach Luft schnappt. Dazu äußerst starke inspiratorische Einziehungen.**

Der Versuch wird nun unterbrochen. Als ich bei einem Druck von 310 mm Hg noch einige Sekunden anhielt und beobachtete, bemerkte ich, wie die Atmung beim operierten Tier ruhiger wurde, währenddem das Normaltier dalag, nach Luft schnappte und Kot ließ. Dabei trat bei ihm ein ausgesprochener Exophthalmus auf, und die inspiratorischen Einziehungen wurden noch stärker. Beim Luftzulassen wurde die Atmung beim operierten Tier bei einem Druck von 430 mm Hg wieder ganz normal, ruhig, wie zum Beginn des Versuchs. Bei Normalluft angelangt, atmete das operierte Tier ruhig weiter, während das Normaltier (das sich bei 380 wieder erhoben hatte) erhöhte Frequenz aufwies und dazu am ganzen Körper zitterte. Dann schlossen beide die Augen und verfielen in schlafähnlichen Zustand. Es wird dies wohl ein Ausdruck hochgradiger Erschöpfung sein. Das operierte Tier kratzte sich nach einigen Minuten wieder und ging umher, indessen das Normaltier noch lange in diesem Erschöpfungszustand verharrte.

Dieser Versuch kann als entscheidend und äußerst wichtig angesehen werden; zeigt er doch, daß auch bei einem andern schilddrüsenlosen Tier dieselbe Gleichgültigkeit gegen O_2-Mangel vorhanden ist. Er beweist ferner, daß die Ausfallerscheinungen sofort eintreten nach Wegnahme der Thyreoidea. Denn das Versuchstier wurde erst vor 2 Tagen operiert. Von einer postnarkotischen Wirkung kann auch nicht gesprochen werden, da wir ja dieselbe Reaktionslosigkeit auf O_2-Mangel auch bei einem vor 20 Tagen operierten Tier beobachten konnten.

Tabelle V.

Versuch 8 vom 8. Juni 1917.

Gebraucht werden ein vor 2 Tagen operiertes Tier und 2 Normaltiere. Zur CO_2-Absorption ist ein Behälter mit 30% KOH angebracht.

Dauer des Versuchs . . . . 28 Minuten

Tagesbarometerstand . . . . 715 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . 23°
Atemfrequenz der Normaltiere . . 78 und 80
" des operierten Tiers 70
Alle drei Tiere sitzen ruhig da, dem Licht abgewendet.

Verhalten des operierten Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten der Normaltiere
	670	Beide Tiere legen den Kopf auf das operierte Tier.
Die Atemfrequenz nimmt etwas zu, vielleicht weil die zwei Normaltiere in Orthopnoe auf ihm liegen.	650	
	640	Ein Normaltier beginnt sich zu kratzen, besonders lebhaft an den nackten Körperstellen.
	630	Auch das andere kratzt sich, dann gehen beide unruhig umher, ohne wieder Orthopnoe einzunehmen.
	590	Bei beiden ist die Atemfrequenz vermehrt, dazu leichte inspiratorische Einziehungen.
	570	Die Atemfrequenz nimmt immer mehr zu, sie ist bei beiden Tieren gleich, etwa 2 mal rascher als beim operierten Tier. Die inspiratorischen Einziehungen sind ebenfalls stärker.
	520	Beide atmen mit dieser hohen Frequenz sehr oberflächlich.
	510	Beide kratzen sich ziemlich gleichzeitig, dann nimmt das eine Orthopnoe ein bei dem schilddrüsenlosen Tier.
	500	Bei Schlag an die Glasglocke zucken alle 3 Tiere zusammen; während das operierte Tier nur etwas mit den Ohren zuckte und bei wiederholtem Schlag ganz reaktionslos blieb, zuckten die 2 Normaltiere jedesmal kräftig mit dem ganzen Körper. (In Normalluft reagieren alle 3 Ratten gleich auf diesen Glockenschlag.)
	490	Gehen beide etwas unruhig umher, kratzen sich dann; die Atmung wird langsamer aber tiefer, die inspiratorischen Einziehungen deutlicher.
Atmung bis jetzt ruhig, normal, nachdem die zwei Normaltiere die Orthopneu aufgegeben hatten. Nun nimmt die Frequenz aber etwas zu, die Atmung bleibt jedoch ruhig, gleichmäßig.	470	Das eine Tier schnüffelt unruhig.

Verhalten des operierten Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten der Normaltiere
	460	Nun nehmen beide wieder Orthopnoe ein, nachdem sie normal dagesessen waren. Die Atmung wird langsamer. Frequenz etwa wie beim operierten Tier. Atmung aber unruhig, ruckartig, von ganz anderem Typus als beim schilddrüsenlosen Tier.
Reagiert überhaupt nicht auf Glockenschlag.	430	Das eine Tier wird unruhig, kratzt sich, verläßt Orthopnoe und reagiert auf Glasglockenschlag stärker als das andere Normaltier.
	400	Die Atmung ist bei beiden ruckförmig, kein ruhiges Inspirium wie beim schilddrüsenlosen Tier.
	390	Das eine Tier geht unruhig umher, zittert am ganzen Körper, steht auf den Hinterbeinen und schnappt nach Luft. Dann nimmt es fast senkrechte Orthopnoe auf dem operierten Tier ein.
Auge normal offen, das Tier ist immer ganz ruhig, bei normaler Atmung.	360	Beide gehen kriechend umher, können nicht mehr stehen; die Atmung ist wieder rasch und oberflächlich, dazu zeigen beide Exophthalmus.
	330	Beide machen ruckartige Bewegungen, es sind wohl Versuche, sich zu erheben.
	320	Die Atemfrequenz nimmt beim einen Tier noch zu.
	290	Beide kriechen umher, schließlich kann sich eines erheben, später auch das andere. Beide stehen auf den Hinterbeinen und fallen rücklings; sie machen dazu unruhige Augenbewegungen.
Kratzt sich am Mund. Plötzlich steht es aus seiner Sitzstellung auf, macht mit den Vorderfüßen 3—4 klonische Zuckungen, hält sie dann für einige Sekunden in Pfötchenstellung. Dann nimmt es wieder Normalstellung ein, bei ruhiger, gleichmäßiger Atmung.	270	Beide lassen Kot gehen, erheben sich, aber fallen sogleich wieder und bleiben mit oberflächlicher, frequenter Atmung liegen, den Kopf nach oben haltend.

Der Versuch wird unterbrochen. Beim Luftzulassen erheben sich die Normaltiere bei 330 und 300 wieder, dann kratzen sich beide. Das eine hält die Nase über das Luftloch und macht hier kräftige Inspirationen. In Normalluft schließen sie die Augen und verfallen in einen schlafähnlichen Zustand. Die Atmung ist dabei etwas frequent. Das

operierte Tier dagegen sitzt ganz ruhig mit normaler Atmung da, wie bei einem Druck von 270 mm Hg.

Dieser zweite Versuch mit einem andern schilddrüsenlosen Tier ist mit dem nächstfolgenden der instruktivste aller Versuche überhaupt. Denn die 2 Normaltiere zeigten sozusagen immer gleichzeitig dieselben Symptome. Wie grundverschieden das allgemeine Verhalten dieser Normaltiere gegen dasjenige der schilddrüsenlosen Tiere bei O_2-Mangel ist, war auch hier in sehr frappanter Weise zu beobachten. — Bei diesem Versuch war noch ein Weiteres aufgefallen: Die klonischen Zuckungen beim operierten Tier. Dies Verhalten in einer Atmosphäre, wo Normaltiere dem Erstickungstod schon nah sind, läßt den Gedanken aufkommen, als ob der O_2-Mangel das auslösende Moment dieser Zuckungen sei. Das Auftreten der Zuckungen weist darauf hin, daß es sich wahrscheinlich um Tetanieerscheinungen handelt. Ganz abgeklärt ist dies Symptom dennoch nicht, da dasselbe Tier bei weitern Untersuchungen nie wieder ähnliche oder gleiche Erscheinungen darbot.

Dieses gleiche Verhalten zweier Normaltiere während der sukzessiven O_2-Verminderung bestimmte mich, zu untersuchen, ob zwei thyreoidektomierte Tiere in den verschiedenen Luftverdünnungen auch gleichzeitig dieselben Symptome zeigen. Daß das wirklich zutraf, und zwar im selben Sinne wie die frühern Experimente, zeigt der folgende Versuch.

Tabelle VI.

Versuch 9 vom 11. Juni 1917.

Gebraucht werden zwei schilddrüsenlose Tiere, eines am 18. Mai, das andere am 6. Juni operiert. Dazu 2 Normaltiere. Zur CO_2-Absorption ist ein Behälter mit 30 % KOH angebracht.

Dauer des Versuchs . . . . 23 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 711 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . 22°
Atemfrequenz der Normaltiere . . 104, 110
" " operierten Tiere 98, 96

Die 4 Tiere sitzen ruhig beieinander.

Verhalten der schilddrüsenlosen Tiere	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten der Normaltiere
	680	Beide gehen umher.
	560	Die Atmung wird bei beiden tiefer, langsamer, dazu leichte inspiratorische Einziehungen.
	500	Die Atemfrequenz nimmt bei beiden stark zu, ebenfalls die Einziehungen.
	460	Zuerst wird das eine, dann auch das andere etwas unruhig; dann kratzen sich beide.
	420	Bei einem Tier wird die Dyspnoe größer; es zeigt überhaupt größere Unruhe als das andere.

Verhalten der operierten Tiere	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten der Normaltiere
	400	Nun wird auch das andere unruhig. Beide gehen umher.
	380	Beide gehen von neuem ziemlich gleichzeitig umher und nehmen dann typische Orthopnoe auf einem der operierten Tiere ein. Die Atmung ist sehr frequent, mit starken inspirator. Einziehungen.
Bis jetzt saßen beide in Normalstellung mit ruhiger Atmung still da. Nun kratzt sich das eine lebhaft, wird aber bald wieder ruhig. Die Atmung blieb dabei normal, keine seitlichen Einziehungen.	370	
	360	Auffällige Dyspnoe mit starken inspiratorischen Einziehungen.
	350	Fast gleichzeitig gehen beide wieder umher, können schließlich nicht mehr stehen und kriechen zu einem der operierten Tiere, auf das sie den Kopf in Orthopnoe auflegen. Alle 4 Tiere sind dabei dem Licht abgewandt.
Ein operiertes Tier kratzt sich, geht in leichter Unruhe umher und hat deutliche inspiratorische Einziehungen.	340	
	330	Kriechen wieder umher, können aber nicht stehen.
	310	Beide gehen wieder, zuerst das eine, dann auch das andere, kriechend umher. Beide haben auffällige Dyspnoe.
Gehen auch beide umher, jedoch lange nicht so unruhig wie die zwei Normaltiere. Atmung ganz ruhig und normal.	300	Die Atemfrequenz nimmt bei beiden immer mehr zu.
	280	Das eine Normaltier macht ruckartige Bewegungen.
Werden beide ziemlich gleichzeitig erregt und gehen unruhig umher. Die Atmung ist aber normal, und sie fallen nicht. Dann nehmen sie wieder Normalstellung ein.	270	
	260	Beide machen rasche kurze Bewegungen, können dann schließlich stehen und gehen kriechend umher. Nun fällt das eine um und bleibt liegen, bald darauf auch das andere. Beide lassen Kot und Urin unter sich.

Der Versuch wird hier unterbrochen. Beim Luftzulassen erheben sich beide Normaltiere bald wieder, das eine bei 300, das andere bei 310; von 540 an kratzen sie sich lebhaft. Die schilddrüsenlosen Tiere dagegen sitzen ruhig da, wie bei einem Druck von 260 mm Hg. Dann sitzen alle vier beisammen und scheinen müde zu sein. Besonders die 2 Normaltiere machen den Eindruck hochgradiger Erschöpfung.

Auch dieser Doppelversuch illustriert in sehr deutlicher Weise, daß sowohl bei den Normaltieren wie auch bei den schilddrüsenlosen die Symptome sozusagen immer gleichzeitig auftreten, je nach dem O_2-Gehalt der Atemluft. Er zeigt des weitern, daß sich schilddrüsenlose Tiere gleich verhalten auf O_2-Mangel, ob nun der Versuch einige Tage oder erst Wochen nach der Operation erfolgt. Die durch die Thyreoidektomie geschaffenen Veränderungen scheinen also sofort in Wirksamkeit zu treten und auf unbestimmte Zeit anzuhalten.

Tabelle VII.

Versuch 10 vom 14. Juni 1917.

Gebraucht werden: E n drittes (anderes) schilddrüsenloses Tier vom 6. Juni, also 8 Tage alt und 1 Normaltier. Die Wunde ist vollständig geheilt. Zur CO_2-Absorption ist ein Behälter mit 30 % KOH angebracht.

Dauer des Versuchs . . . . 28 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 718 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . . . . 22°
Atemfrequenz des Normaltiers 78
" " schilddrüsenlosen Tiers 80

Verhalten des schilddrüsenlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
	650	Schnüffelt und wird etwas unruhig.
	600	Geht schnüffelnd umher und kratzt sich.
	580	Geht wieder etwas unruhig umher; die Atemfrequenz nimmt zu.
Wendet sich vom Licht ab.	570	
	560	Atmung kurz, frequent und oberflächlich.
	510	Nun werden inspiratorische Einziehungen sichtbar. Die Frequenz ist etwa 2 mal so rasch wie beim operierten Tier.
	470	Die Atmung wird noch rascher und die seitlichen Einziehungen noch deutlicher.
	440	Nach einigen sehr raschen, oberflächlichen Inspirationen tritt ein kurzer Atmungsstillstand ein.
	430	Unruhe. Dann nimmt das Tier Orthopnoe auf dem operierten ein.
	420	Plötzlich aufgeregtes Umhergehen; dann sehr frequente Atmung mit starken inspiratorischen Einziehungen.

Verhalten des schilddrüsenlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
	400	Geht für kurze Zeit unruhig umher und legt dann wieder den Kopf in Orthopnoe auf den Rücken des operierten Tiers.
	380	Nun sinkt es auf den Bauch nieder und läßt dabei viel Kot unter sich. Die Atmung ist sehr frequent.
	360	Nach kurzer Erregung, wo es ihm wieder gelingt, Normalstellung einzunehmen, nimmt es wieder Orthopnoe auf der operierten Ratte ein.
Kratzt sich. Atmung noch immer so ruhig und normal wie im Beginn des Versuchs.	350	
	340	Das Tier macht einige ruckartige, schnellende Bewegungen. Die Atmung ist sehr oberflächlich. Dann nimmt es wieder Orthopnoe ein.
Zeigt bei normaler Atemfrequenz mäßige inspirator. Einziehungen, bei tiefer, ruhiger Atmung.	330	Geht ruckartig umher, läßt Kot, schnappt nach Luft und fällt auf die Seite. Die Füße werden auffallend cyanotisch.
	300	Erhebt sich wieder, nimmt für kurze Zeit Orthopneu auf dem operierten Tier ein, geht wieder umher und schnappt nach Luft. Schließlich steht es auf den Hinterbeinen, fällt und bleibt wie tot liegen.
Kratzt sich, geht unruhig umher und sitzt in Normalstellung wieder nieder. Die Atmung ist dabei ruhig und normal.	290	

Hier wird der Versuch unterbrochen. Beim Luftzulassen erhebt sich das Normaltier rasch wieder; von 400 an kratzt sich das schilddrüsenlose Tier, später dann auch das andere.

Tabelle VIII.

Versuch 11 vom 14. Juni 1917.

Es werden gebraucht: Ein schilddrüsenloses Tier, operiert am 18. Mai und ein Normaltier.

Dauer des Versuchs	25 Minuten
Tagesbarometerstand	718 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke	23°
Atemfrequenz des Normaltiers	92
" " schilddrüsenlosen Tiers	100

Beide Tiere sitzen ruhig da, das operierte ist dem Licht abgewandt. Zur CO_2-Absorption ist ein Behälter mit 30% KOH angebracht.

Verhalten des operierten Tiers	Manometer-druck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
	640	Geht umher, schnüffelt und kratzt sich.
	570	Wird plötzlich stark erregt u. geht umher.
	560	Die Atmung ist kurz, abgeschnitten, oberflächlich, die Frequenz nimmt zu.
	520	Das Tier wendet sich ebenfalls dem Licht ab, die Atmung ist etwa 2 mal rascher als beim schilddrüsenlosen Tier.
	480	Steht auf den Hinterbeinen und nimmt dann Orthopnoe auf dem operierten Tier ein. Die Atemfrequenz ist etwa 3 mal rascher als im Beginn des Versuchs.
	430	Geht unruhig umher.
Schnüffelt. Die Atmung wird tiefer, ist aber ruhig und die Frequenz normal.	420	
	400	Geht schnüffelnd umher, deutliche inspiratorische Einziehungen.
Wendet sich wieder vom Licht ab.	350	Starke Dyspnoe. Geht neuerdings unruhig umher.
	330	Nach einigen raschen Atmungen folgt eine tiefe Inspiration, dann tritt für einige Augenblicke Atemstillstand ein. Dasselbe wiederholt sich einige Male. Die Dyspnoe wird stärker.
Sehr starke inspiratorische Einziehungen. Die Atmung ist aber ruhig und von normaler Frequenz.	310	
Geht schnüffelnd umher und nimmt Orthopnoe ein auf dem Normaltier. Trotzdem ist die Atmung ruhig und langsam.	300	Das Tier macht einige ruckartige Bewegungen, dann fällt es auf die Seite.
Verläßt die Orthopneu wieder.	275	Erhebt sich wieder, steht auf den Hinterbeinen, fällt aber sogleich wieder und schnappt nach Luft. Die Atmung ist dazu sehr frequent. Exophthalmus.
Geht mit offenem Mund umher. Die Atmung ist aber merkwürdigerweise ganz ruhig und normal. Dann nimmt das Tier wieder Normalstellung ein.	260	Das Tier versucht, sich zu erheben, kann aber nicht. Läßt Urin unter sich.

Nun wird der Versuch unterbrochen. Bei 300 erhebt sich das Normaltier wieder und verfällt in den schlafartigen Zustand; dazu zittert es am ganzen Körper. Das thyreoidektomierte Tier geht in Normalluft umher und kratzt sich lebhaft.

In diesem Versuch konnte das erste und einzige Mal beobachtet werden, daß auch ein schilddrüsenloses Tier Orthopnoe einnimmt. Es wird wohl nur eine zufällige Lage gewesen sein, da die Stellung bald wieder aufgegeben wurde und sich nie, auch in keinem andern Versuch, wiederholte. Im allgemeinen macht dieser Versuch aber den Eindruck, als ob die Wirkung der Schilddrüsenexstirpation auf den O_2-Mangel mit der Zeit etwas abklinge. Die spätern Versuche mit demselben Tier, das am 18. Mai operiert wurde, sprechen aber wieder gegen diese Annahme. Da das ganze Experiment weniger typisch ist als die übrigen Versuche, könnte auch angenommen werden, daß das Tier an einer vorübergehenden Indisposition litt.

Tabelle IX.

Versuch 16 vom 21. Juni 1917.

Gebraucht werden: Zwei schilddrüsenlose Tiere, eines vor 34 Tagen operiert, das andere vor 15 Tagen; dazu ein Normaltier.

Dauer des Versuchs . . . . 24 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 710 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . . . . 27°
Atemfrequenz des Normaltiers 74
„ der schilddrüsenlosen Tiere 78, 80

Zur CO_2-Absorption ist ein Behälter mit 30% KOH angebracht. — Alle 3 Tiere sitzen ruhig in Normalstellung da, dem Lichte abgewendet.

Verhalten der operierten Tiere	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Das eine operierte Tier zeigt vermehrte Atemfrequenz.	570	
	500	Geht aufgeregt und schnüffelnd umher; die Atmung ist frequent und oberflächlich.
Dasselbe Tier zeigt noch immer frequente Atmung.	480	Nimmt Orthopnoe auf einem operierten Tier ein, dazu frequente Atmung und inspiratorische Einziehungen.
	450	Schnüffelt, schnappt nach Luft und nimmt wieder Orthopnoe ein.
Die Atmung ist wieder normal und bei beiden Tieren gleich ruhig.	440	Geht wieder schnüffelnd umher und nimmt von neuem Orthopnoe auf einem schilddrüsenlosen Tier ein.
	430	Geht unruhig umher, steht auf den Hinterbeinen und schnappt nach Luft. Dann nimmt es wieder Orthopnoe ein. Die Atmung ist sehr frequent, dazu starke inspiratorische Einziehungen.
Ein Tier geht unruhig umher, schnüffelt; dann wird es bald wieder ruhig. Die Atmung bleibt immer normal dabei.	420	

Verhalten der operierten Tiere	Manometer-druck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Leichte inspiratorische Einziehungen beim einen Tier	410	Geht unruhig umher, dann nimmt es wieder Orthopnoe ein.
Dasselbe geht umher mit leicht vertiefter Atmung.	400	
	390	Geht schnüffelnd umher, dabei ist die Atmung sehr oberflächlich, die Frequenz etwa 2mal rascher als bei den operierten Tieren. Dann nimmt es wieder Orthopnoe ein.
Ein Tier ist ziemlich unruhig.	360	
Dasselbe Tier zeigt starke inspirator. Einziehungen.	340	Das Normaltier steht auf den Hinterbeinen, geht dann sehr erregt umher und macht ruckartige Bewegungen.
	320	Beim Versuch, auf den Hinterbeinen zu stehen, fällt das Tier rücklings und macht ruckartige Bewegungen, indem es nach Luft schnappt.
Beide operierten Tiere gehen umher.	300	Das Tier liegt mit etwa 3mal rascherer Atmung als die der operierten Ratten da, läßt Kot unter sich. Die Versuche, sich zu erheben, sind fruchtlos.
	290	Macht wieder ruckartige Bewegungen; nach einigen Versuchen, sich zu erheben, gelingt es ihm. Nun steht es auf den Hinterbeinen, fällt sogleich wieder und bleibt liegen. Dabei läßt es Kot unter sich. Atembewegungen sind kaum mehr sichtbar.
Beide atmen mit deutlichen inspiratorischen Einziehungen, sind aber ruhig und in Normalstellung.	280	

Hier wird der Versuch unterbrochen. Beim Luftzulassen bleibt das Normaltier noch 4 Minuten wie tot liegen, die Atmung ist dabei fast nicht sichtbar. Nach weiteren 15 Minuten hat es sich wieder ganz erholt und steht auf. Die beiden schilddrüsenlosen Tiere dagegen kratzen sich und atmen normal, nur etwas tief.

Auffällig bei diesem Versuch war das Verhalten des vor 34 Tagen operierten Tieres; denn es zeigte sich sehr unruhig und in seiner Atmung beengt. Eine Untersuchung der Operationsstelle erklärte aber bald dieses merkwürdige Verhalten. An der Narbenstelle war nämlich ein mehr als kirschsteingroßer Tumor palpierbar von elastischer Konsistenz, auf der Unterlage beweglich. Nach einem kleinen Einstich ließ sich viel dicker Staphylokokkeneiter auspressen. Es handelte sich um einen Fadenabsceß. Trotz dieses Atmungshindernisses, das sicherlich eine

starke Kompression der Trachea bewirkte, überstand das Tier den Versuch glatt; es fiel nie. Die Unruhe ist also erklärt. Das andere operierte Tier verhielt sich ganz gemäß den bisherigen Ergebnissen; es blieb auf O_2-Mangel, der ein Normaltier zu totalem Kollaps brachte, sozusagen ganz unempfindlich.

Tabelle X.

Versuch 20 vom 28. Juni 1917.

Gebraucht wurden zwei schilddrüsenlose Tiere, eines am 18. Mai operiert, das andere am 6. Juni. Ferner ein Normaltier. Das eine davon überstand eben die Incision des Fadenabscesses.

Dauer des Versuchs . . . . 23 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 713 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . . . . 24°
Atemfrequenz des Normaltieres 74
„ der schilddrüsenlosen Tiere 76,65

Zur CO_2-Absorption ist ein Behälter mit 30% KOH angebracht. Die Tiere sitzen ruhig beisammen; die Ratte mit dem Fadenabsceß zuckt bei jeder Inspiration mit dem Kopf nach vorn.

Verhalten der zwei schilddrüsenlosen Tiere	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
	620	Kratzt sich.
	570	Die Atmung wird etwas tiefer.
Das ältere operierte Tier mit dem Fadenabsceß schnüffelt, die Atmung wird frequenter.	530	
Dieselbe Ratte geht etwas umher, zuckt bei jeder Inspiration mit dem Kopf.	500	
	440	Geht umher, nimmt dann Orthopnoe auf dem gesunden operierten Tier ein. Die Atmung ist langsam, tief, mit inspiratorischen Einziehungen.
	420	Geht wieder umher. Die Einziehungen werden noch stärker.
	400	Steht auf den Hinterbeinen; dazu noch immer die tiefe Atmung.
	380	Kratzt sich.
Ein operiertes Tier geht umher und schnüffelt.	370	Die Atmung wird noch frequenter, die inspirat. Einziehungen noch stärker.
	340	Steht auf den Hinterbeinen. Die Atemfrequenz ist etwa zweimal rascher als bei den operierten Ratten; die seitlichen Einziehungen sind noch ausgesprochener.

Verhalten der zwei schilddrüsenlosen Tiere	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Das andere schnüffelt auch, zeigt auch inspiratorische Einziehungen, die Atmung ist aber langsam u. ruhig.	330	
	320	Geht unruhig umher, steht auf den Hinterbeinen.
Das erste operierte Tier zeigt langsame Atmung, aber auffallend starke inspiratorische Einziehungen.	300	Geht wieder umher und fällt. Versuche, sich zu erheben, bleiben erfolglos.
Nun zeigt dasselbe Tier auch starken Exophthalmus.	280	
Beide zeigen sehr starke inspirator. Einziehungen.	260	Kriecht umher, versucht sich zu erheben, kann aber nicht.
Nun gehen beide erregt umher, sitzen aber dann wieder in Normalstellung nieder.	250	Endlich gelingt es ihm doch, aufzustehen. Es fällt aber sogleich über einem der operierten Tiere wieder zusammen und bleibt mit schwacher, kaum sichtbarer Atmung liegen.

Der Versuch wird nun unterbrochen. Beim Luftzulassen versucht das Normaltier, sich bei einem Druck von 500 mm Hg zu erheben. Es gelingt ihm aber erst bei 580. Dann kratzt es sich und nimmt Orthopneu auf einem der operierten Tiere ein. Die schilddrüsenlosen Tiere sitzen ruhig da, wie bei 250. Das Zucken des Kopfes beim operierten Tier mit dem Fadenabsceß hielt auch während des ganzen Versuchs an. Wahrscheinlich handelt es sich um eine Art Abwehrbewegung gegen den Schmerz, den jede Inspiration auslösen mochte.

Da weitere Untersuchungen dieselben Resultate ergaben, so ist es kaum nötig, noch mehr Protokolle hier wiederzugeben. Die 10 Tabellen mögen als Beleg genügen.

Ergebnisse dieser Versuche, Kritik, Theorie.

Fassen wir die Charakteristika dieser Versuche zusammen, so finden wir: Bei den Normaltieren macht sich der O_2-Mangel in einer anfänglichen Erregung geltend; dann ändert sich der Atemtypus vollständig, Schallempfindungen werden so intensiv empfunden, daß der ganze Körper mit Zusammenzucken darauf reagiert. Später wird die Dyspnoe so groß, daß die Tiere ihre normale Lage ändern und Orthopnoe einnehmen. In den meisten Fällen kann auch enorme Erweiterung der Lidspalte wahrgenommen werden. Zum Schlusse folgt ein ausgespro-

chenes, kurzes Erregungsstadium; der Symptomkomplex wird abgeschlossen durch das Zusammenfallen der Tiere, das mit Incontinentia alvi et urinae begleitet ist.

Bei schilddrüsenlosen Tieren bemerken wir nur das anfängliche Erregungsstadium. Selten nur wurde auch eine Veränderung des Atemtypus wahrgenommen; das Enderregungsstadium mit Kollaps, wie bei den Normaltieren, tritt nicht auf.

Ein Blick auf die Tabellen zeigt sofort das ganz verschiedene Verhalten der operierten und der nicht operierten Tiere bei O_2-Mangel: Einesteils ein physiologisches Verhalten der Normaltiere, andernteils eine absolute Gleichgültigkeit auf die O_2-Verarmung der Atmungsluft.

Gegen diese Versuchsanordnung läßt sich freilich einiges einwenden. Wie bei allen Tierversuchen, so sind wir auch hier auf das objektiv Wahrgenommene und Beobachtete angewiesen. Über das subjektive Empfinden wissen wir absolut nichts Direktes. Freilich sehen wir im objektiv Beobachteten einen Ausdruck des tatsächlichen Empfindens; dennoch muß zugegeben werden, daß allen Tierversuchen ein gewisser Mangel zugrunde liegt. Weiterhin könnte bei diesen Versuchen der Einwand gemacht werden, daß durch mechanische Einwirkungen (Druckverminderung usw.) die Gefäßwände der Alveolen verändert würden. Dem ist entgegenzuhalten, daß sowohl die normalen wie die operierten Tiere in gleichem Maße von diesem Faktor betroffen würden, das Resultat dennoch dasselbe bleiben müßte. Ferner könnte eingewandt werden, daß durch die Thyreoidektomie die Lungenalveolen verändert würden, was dann die Unempfindlichkeit auf O_2-Mangel bedingte. Dies scheint aber sehr unwahrscheinlich zu sein, da die Versuche, die schon 2 Tage nach der Operation gemacht wurden (in welcher Zeit sich unmöglich schon eine Alveolarveränderung hätte bilden können), genau gleichlautend ausfielen wie Versuche, die erst 4 bis 6 Wochen nach der Operation unternommen wurden. Im Gegenteil konnte beobachtet werden, daß die O_2-Gleichgültigkeit kurz nach der Operation eher größer war als einige Wochen später. Dem Einwand, daß die Atmungskohlensäure mitbestimmend sei auf die Auslösung der Symptome, wurde, wie schon kurz angezeigt, dadurch begegnet, daß unter die Glasglocke ein Behälter mit 30%iger

Kalilauge angebracht wurde; dadurch wurde die Kohlensäure immer absorbiert. Es zeigte sich übrigens, daß diese Atemkohlensäure keinen merkbaren Einfluß auszuüben imstande war, da die Resultate absolut dieselben blieben ohne und mit Anwendung von Kalilauge.

Diesen Einwänden stehen aber auch unbestreitbare Vorteile gegenüber. Nur unter dieser Versuchsanordnung war es beispielsweise möglich, die Tiere unter genau denselben Lebensbedingungen zu beobachten. Dies ist der allerwichtigste Vorteil. Mögen die einzelnen Versuche untereinander auch variieren (zum Beispiel tritt der kritische Punkt das eine Mal bei einem Druck von 250 mm Hg ein, das andere Mal bei 310), so können die Ergebnisse dennoch vollwertig verwendet werden; denn ob die Symptome nun früher oder später auftraten, die Versuchsbedingungen (O_2-Gehalt, Druck, Temperatur, Lebensweise usw.) waren sowohl für die schilddrüsenlosen wie für die normalen Tiere im einzelnen Versuch immer absolut dieselben. Ein weiterer Vorteil kann darin erblickt werden, daß die Versuchsanordnung eine möglichst einfache ist. Die ganze Apparatur weist infolge ihres kurzen, geschlossenen Systems mit möglichst geringem toten Raum keine nennenswerten Fehlerquellen auf. Entscheidender werden die Resultate auch deshalb, daß wir uns nur auf die Beobachtung der Tiere zu verlassen brauchen. Darin liegt der Vorteil, daß die Tiere unter denselben Bedingungen zugleich gleichzeitig beobachtet werden können. Freilich erscheint dies auf den ersten Anblick sehr einseitig zu sein. Auf genaueres Zusehen hin muß aber bald zugegeben werden, daß wir dabei mannigfache Symptome kennen lernen, die in ihrem Auftreten so verschieden sind, daß wir schließlich ein ziemlich reichhaltiges Differenzialdiagnostikum vor uns haben. Denn wohlbemerkt verhalten sich operierte und normale Tiere in gewöhnlicher Luft absolut gleich, sei es Stellung, Lage, Bewegung, Atemtypus, Atemfrequenz, Weite der Lidspalte, Empfindlichkeit auf Schalleinwirkung (Schlag an die Glasglocke), Lichtempfindlichkeit usw. Mit einer einzigen Ausnahme bei einem kranken operierten Tier wurde nie beobachtet, daß schilddrüsenlose Ratten Orthopnoe einnehmen; unter dieser Orthopnoe verstehe ich das Auflegen des Kopfes, eventuell der ganzen oberen Körperhälfte

auf den Rücken des anderen Tieres oder sonst auf einen erhöhten Gegenstand. Die inspiratorischen Einziehungen sind als äußerst krampfhafte, tiefe Inspirationen aufzufassen.

Des weiteren sei noch bemerkt, daß alle operierten Tiere früher als Normaltiere verwendet wurden, also durch die Operation allein das verschiedene Verhalten auf O_2-Mangel zustande kam. Daß dabei die Narkose mitverantwortlich gemacht werden könnte, ist ganz ausgeschlossen, da sich die Tiere 4 bis 6 Wochen nach der Narkose gleich verhielten in den Versuchen, wie 2 Tage nachher. Eine postnarkotische Besonderheit konnte übrigens auch nie beobachtet werden.

Und nun die Ergebnisse dieser Versuche:

Schilddrüsenlose Tiere sind gegenüber O_2-Mangel, der Normaltiere dem Erstickungstod nahebringt, sozusagen unempfindlich. Wir hätten also auf ganz anderem Wege dasselbe Resultat gefunden wie Mansfeld und Müller. Auf den ersten Anblick wäre man auch geneigt, ihrer Erklärung dieser Tatsache zuzustimmen. Sie sagen nämlich, daß der O_2-Mangel nur an der Schilddrüse angreife. Daß dem nicht so sein kann, zeigt die zweite Versuchsreihe, die gleich beschrieben werden wird. Wir müssen also eine andere Erklärung finden, eine Erklärung, die einmal mit dem zweiten und dritten Teil dieser Arbeit übereinstimmt und zugleich auch mit den höchst interessanten Resultaten von Dubois im Einklang steht. Tatsächlich läßt sich eine derartige Hypothese aufstellen:

Die Schilddrüse ist ein Organ, das die Oxydationstätigkeit der Zellen anregt und somit den allgemeinen Stoffwechsel fördert. Eine Stütze dieser Annahme haben wir darin, daß bei vermehrter Schilddrüsentätigkeit der allgemeine Stoffwechsel gesteigert ist; umgekehrt ist das Verhalten bei Schilddrüsenmangel. Nun wissen wir, daß O_2-Mangel die Thyreoidea zu vermehrter Tätigkeit anregt. Die Zelloxydation und der allgemeine Stoffwechsel nehmen folglich zu. Die so gebildeten Oxydationsprodukte ihrerseits brauchen aber wieder Sauerstoff zum weiteren Abbau, und da dieser nicht vorhanden ist, so wird zuerst das Atemzentrum zu vermehrter Tätigkeit angeregt. Ist aber die Atmungsluft zu sauerstoffarm, so kann dadurch keine Kompensation eintreten und der Organismus geht an innerer Erstickung und Vergiftung zugrunde. (Durch Zellabbau-

produkte, z. B. Peptone und andere Eiweißderivate, die für den Organismus äußerst giftig sind.) So können wir uns die Vorgänge beim normalen Tier vorstellen. Fehlt aber die Schilddrüse und somit auch das oxydationsfördernde Agens, so sind Zelloxydation und Stoffwechsel geringer. Deshalb wird der O_2-Mangel von thyreoidektomierten Tieren viel weniger empfunden als von Normaltieren. (Nach der modernen Auffassung kann dieses oxydationsfördernde Prinzip des Schilddrüsensekretes als ein Hormon angesehen werden.)

Die vorstehenden Versuche ergeben ferner eine Bestätigung der Resultate von Rippstein, nämlich daß es nur der O_2-Mangel allein sei, der Symptome auslöst, die denjenigen der Bergkrankheit in einem gewissen Sinne zu vergleichen sind. Denn wäre es nicht der O_2-Mangel allein, der die Symptome bewirkt, so müßten sich normale und operierte Tiere gleich verhalten, da die mechanischen Verhältnisse für beide absolut dieselben sind. Somit wäre die mechanische Theorie der Bergkrankheit widerlegt. (Denn das Prinzip, die Ursache bei der eigentlichen Bergkrankheit ist dieselbe, wenn auch die Symptome hier mit denjenigen des Menschen nicht absolut identisch sind.) Obwohl unter denselben mechanischen Bedingungen, in derselben Luftzusammensetzung, in denselben Druckverhältnissen, in denselben Temperaturen, zeigen operierte und nichtoperierte Tiere absolut verschiedenes Verhalten; der Grund hierfür darf nur im O_2-Mangel mit seinen chemischen Folgen zu suchen sein.

Es wäre nun äußerst interessant, zu untersuchen, ob die Natur diese Ergebnisse auch bestätigt. Denn der Schluß liegt nahe, daß, je geringer die Luft an Sauerstoff ist, also je höher die Tiere leben, desto weniger gut entwickelt die Schilddrüse sei. Kropfforschungen in Alpenländern scheinen in dieser Frage wenig Brauchbares zu ergeben. Nur wirkliche Kretinen könnten verwertet werden, da sonstige landläufige Kröpfe gar oft eine Hyperthyreose darstellen. In der Schweiz sind tatsächlich gewisse Gegenden des Wallis, des Oberlandes typisch kropfverseucht. Da aber Graubünden und der Jura sozusagen kropffrei, das Mittelland Berns aber sehr kropfreich ist, so kommen wir auf widersprechende Gebiete. Da die Strumaerkrankung übrigens als Infektionskrankheit angesehen werden

muß, können wir hieraus nichts schließen, was sich auf unseren Gegenstand bezieht. Wichtiger dagegen wäre die Verwertung der Angaben über Cachexia thyreopriva, Myxoedem und Morbus Basedowii. Ob sich hier gewisse Bestätigungen der Ergebnisse unserer Versuche finden lassen, werden wir gleich sehen. Beim Myxoedem und bei Cachexia thyreopriva, also bei Hypofunktion der Thyreoidea, sind Oxydationsvorgänge und Stoffwechsel tatsächlich herabgesetzt; man fand Verminderung der Kohlensäureabgabe und der Sauerstoffaufnahme bis auf 60% der Norm. Die Abnahme der Erythrocyten, der ganze myxödematöse Habitus lassen ebenfalls darauf schließen, daß im gesamten Zellstoffwechsel eine gewisse Hemmung vorhanden sein müsse. Die Natur gibt hier also wirklich ein Beispiel, das für die Richtigkeit unserer Resultate spricht und mit unserer Hypothese vollständig übereinstimmend erklärt werden kann.

Umgekehrt wissen wir, daß beim Morbus Basedowii immer eine Hyperthyreose zu finden ist. Ob diese Hyperthyreose wirklich das Primäre, die Ursache sei, darüber ist man heute noch geteilter Ansicht, das spielt hier aber auch keine Rolle. Es ist ebenfalls eine bekannte Tatsache, daß diese Hyperthyreose immer eine beträchtliche Steigerung des Stoffumsatzes bewirkt; ferner beobachtet man oft Dyspnoe und Oppressionsgefühl. All das spricht ganz entschieden dafür, daß das Sauerstoffverlangen und der Sauerstoffverbrauch viel größer sind. Wir können darin ein neues Beispiel aus der klinischen Erfahrung erblicken, das sowohl unsere Ergebnisse als auch unsere Erklärung dieser Erscheinungen im umgekehrten Sinne bestätigt.

Warum wir mit der Mansfeldschen Anschauung über den Angriffspunkt des O_2-Mangels an der Schilddrüse nicht einig gehen können, wird die zweite Versuchsreihe zeigen.

II. Versuche mit milzlosen Tieren.

Da Dubois, gestützt auf die Resultate seiner Versuche, zum Schlusse kam, daß die Milz in bezug auf die Blutbildung in antagonistischer Beziehung zur Schilddrüse steht, fand ich es höchst interessant, zu untersuchen, ob sich dieser Antago-

nismus auch auf meinem ganz anderen Gebiete nachweisen lasse. Ich benutzte deshalb denselben Apparat, den ich für die thyreoidektomierten Tiere brauchte. Natürlich wurden auch weiße Ratten als Versuchstiere verwendet. Die Versuchsanordnung blieb sich also gleich.

Die Operation.

Äthernarkose. Schrägschnitt parallel dem unteren Rippenbogen links, etwa 2 cm lang. Durchtrennung der Muskulatur, Fascie und des Bauchfells. Eingehen mit einer Pinzette in die Bauchhöhle, Fassen und Luxieren der Milz, Ligaturen und Abtragung. Dann fortlaufende Naht des Peritoneums, der Muskulatur und der Haut; Wattetampon auf die Wunde und Kollodiumpflaster. Desinfektion des Operationsgebietes mit Jod und Alkohol. Die Operation ließ sich auf diese Art am einfachsten ausführen. Der Seitenschnitt bietet den Vorteil, daß man direkt auf die Milz stößt, diese fassen und luxieren kann, ohne das Peritoneum unnötig zu berühren. Es wurde tatsächlich nie eine Infektion beobachtet, die Wunde heilte nach 4 bis 6 Tagen immer glatt.

Versuche.

Ehe ich zur Beschreibung der Versuche übergehe, möchte ich die mir nicht unwesentlich erscheinende Tatsache verzeichnen, daß meine milzlosen Ratten im allgemeinen nicht länger als zehn Tage lebten. Bemerkenswerter ist die weitere Tatsache, daß die Ratten, denen sowohl die Milz wie auch die Schilddrüse entfernt worden waren, länger lebten als die milzlosen Tiere. Ähnliches hatte Dubois bei Kaninchen beobachtet. Welche Zusammenhänge hier vorliegen, soll besonderer Untersuchung vorbehalten sein.

Auch hier werde ich nur die Protokolle wiedergeben, ohne näher auf ihre Bedeutung einzugehen. Eine zusammenfassende Besprechung wird am Schlusse dieses zweiten Teiles der Arbeit folgen.

Tabelle I.

Versuch 12 vom 15. Juni 1917.

Gebraucht werden ein milzloses Tier, operiert vor 2 Tagen, und ein Normaltier. Zur CO_2-Absorption ist ein Behälter mit 30% KOH angebracht.

Dauer des Versuchs . . . . 25 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . . . 717 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke 23°
Atemfrequenz des Normaltieres . 84
" " milzlosen Tieres 82

Das operierte Tier verhält sich in Normalluft unruhiger als das Normaltier.

Verhalten des milzlosen Tiers	Manometer-druck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
	680	Kratzt sich lebhaft.
	660	Kratzt sich noch immer, besonders an Ohren, Nase und Hinterbeinen,
Geht unruhig umher, nachdem es bis jetzt ganz still dagesessen war.	640	Kratzt sich noch immer.
Kratzt sich äußerst lebhaft, nimmt dann Orthopnoe auf dem Normaltier ein, indem es seinen Kopf auf den Rücken des Normaltiers legt. Die Atmung ist tiefer als im Beginn des Versuchs, dazu etwas ruckweise.	630	Jetzt wird das Tier ganz ruhig.
	540	Die Atmungsfrequenz hat etwas zugenommen, die Atmung ist leicht oberflächlich, aber ruhig.
Kratzt sich, geht umher und wendet sich vom Licht ab. Nimmt wieder Orthopnoe auf dem Normaltier ein, dazu inspiratorische Einziehungen; die Atmung ist aber ruhig.	530	
Geht umher und nimmt dann wieder Orthopnoe ein. Die Atemfrequenz ist normal, die Atmung aber ruckweise und dazu deutliche inspir. Einziehungen.	500	
Geht kurz umher, nimmt wieder Orthopnoe ein.	460	
	450	Steht auf den Hinterbeinen, wird unruhig, dazu inspirator. Einziehungen bei beschleunigter Frequenz.
Geht umher und nimmt Orthopnoe ein.	440	
	430	Das Tier macht einige rasche, kurze Atemzüge, nach einer tiefen Inspiration tritt für einige Augenblicke Atemstillstand ein, dann geht die Atmung weiter, mit starken inspirat. Einziehungen.
Die Atmung ist frequent, mit starken inspirat. Einziehungen. Nach einigen sehr aufgeregten Bewegungen nimmt das Tier wieder Orthopnoe ein.	420	Die Frequenz ist rascher als beim milzlosen Tier.

Verhalten des milzlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Die Atmung erscheint sehr mühsam, der ganze Körper hilft bei jeder Inspiration mit.	410	Die Atemfrequenz ist etwa zweimal rascher als beim operierten Tier, dazu ist die Atmung oberflächlich.
Sehr starke inspiratorische Einziehungen, die Frequenz ist aber normal.	400	
Die Atemfrequenz nimmt zu.	380	Wird etwas unruhig.
Bewegt sich ruckweise, sinkt dann seitlich zusammen. Versuche, sich zu erheben, gelingen nicht. Die Atmung ist frequent und sehr oberflächlich.	360	
	350	Das Tier wird unruhig, die Atmung sehr frequent und oberflächlich, dazu starke inspirator. Einziehungen. Dann nimmt es Orthopnoe auf dem gefallenen operierten Tier ein.
Versucht sich zu erheben, jedoch erfolglos. Das Tier streckt die Extremitäten von sich; die Atmung ist äußerst frequent und oberflächlich.	340	

Der Versuch wird hier unterbrochen. Beim Luftzulassen nimmt das milzlose Tier bei einem Druck von 400 mm Hg wieder Normalstellung ein und kratzt sich von 600 an. Das Normaltier gab die Orthopnoe sofort auf beim Luftzulassen. Nach dem Versuch verfallen beide in schlafähnlichen Zustand.

Dieser erste Versuch würde dafür sprechen, daß ein milzloses Tier auf O_2-Mangel viel empfindlicher sei als Normaltiere. Denn abgesehen von dem frühen Eintreten der Asphyxie fiel es hin und schien zu verenden, bevor ein Normaltier ins letzte Erregungsstadium kam.

Tabelle II.

Versuch 13 vom 15. Juni 1917.

Es werden gebraucht ein vor 2 Tagen entmilztes Tier und ein anderes Normaltier.

Dauer des Versuchs	20 Minuten
Tagesbarometerstand	717 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke	25°
Atemfrequenz des Normaltiers	94
„ „ milzlosen Tiers	78

Zur Absorption des Atmungs-CO_2 ist ein Behälter mit 30% KOH angebracht. Die Tiere sitzen ruhig beisammen.

Verhalten des milzlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Ruckweises, langsames Atmen mit inspiratorischen Einziehungen.	620	Kratzt sich.
	590	Die Atemfrequenz nimmt etwas zu.
Das Tier wendet sich vom Licht ab, macht schnelle, ruckartige Bewegungen. NormaleAtmungsfrequenz, doch ist die Atmung tief und zeigt starke inspirat. Einziehungen.	550	
Wieder ruckartige Bewegungen, ähnlich klonischen Zuckungen.	510	
	490	Geht schnüffelnd und unruhig umher. Die Atmung ist oberflächlich, die Frequenz erhöht. Dann nimmt das Tier Orthopnoe ein.
Die inspiratorischen Einziehungen werden noch stärker.	470	
	460	Kratzt sich und geht dann schnüffelnd umher.
Schnüffelt. Dann macht das Tier wieder ruckartige Bewegungen, als ob es aufspringen wollte.	450	
Geht etwas umher.	430	
	420	Atemfrequenz sehr rasch u. oberflächlich.
Legt sich auf die Seite, bleibt schnüffelnd liegen. Versuche, sich zu erheben, mißlingen.	370	
	340	Atemfrequenz etwa zweimal rascher als beim milzlosen Tier. Atmung dabei sehr oberflächlich.
Versuche von neuem, sich zu erheben, kann aber wieder nicht.	330	Geht umher; dann nimmt es kurz Orthopnoe ein, steht dann auf den Hinterbeinen und schnappt dabei nach Luft. Dann nimmt das Tier Normalstellg. ein.
Liegt ganz apathisch da und läßt Kot. Die Atmung ist kaum mehr sichtbar; die Augen fallen zu.	320	

Der Versuch wird unterbrochen. Beim Luftzulassen nimmt das gefallene milzlose Tier bei 430 wieder Normalstellung ein und schüttelt sich. Das Normaltier sitzt mit frequenter Atmung ruhig da. Bei gewöhnlicher Luft wird die Atemfrequenz des operierten Tiers wieder

normal, nur ist die Atmung sehr tief. Dann folgt wieder bei beiden der schlafähnliche Zustand.

Auch dieser Versuch fiel gleichlautend aus wie der vorangehende. Merkwürdig ist, daß vor dem Zusammensinken kein eigentliches Erregungsstadium zu beobachten ist.

Tabelle III.

Versuch 14 vom 20. Juni 1917.

Gebraucht werden ein vor 7 Tagen operiertes Tier und ein Normaltier.

Dauer des Versuchs . . . . 23 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . . . 709 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . 25°
Atemfrequenz des Normaltiers . . 82
" " milzlosen Tiers 82

Zur CO_2-Absorption ist ein Behälter mit 30% KOH angebracht. Die Tiere sitzen mit halbgeschlossenen Augen da; dann kratzen sich beide.

Verhalten des operierten Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
	600	Die Atmung ist etwas oberflächlich.
	570	Leichte inspiratorische Einziehungen. Dann kratzt sich das Tier und nimmt Orthopnoe ein.
	560	Geht schnüffelnd umher.
Schnüffelt und geht auch umher.	550	
Kratzt sich, geht schnüffelnd umher und nimmt Orthopnoe auf dem Normaltier ein. Dazu leichte inspirator. Einziehungen.	540	
	530	Die Atmung wird etwas rascher, mit leichten inspirator. Einziehungen.
Geht umher und nimmt dann wieder Orthopnoe ein.	510	
Starke inspiratorische Einziehungen, Atmung tief und langsam.	500	Wendet sich vom Licht ab.
Reagiert auf Schlag an die Glocke viel empfindlicher als das Normaltier.	490	
	480	Schnüffelt und nimmt dann Orthopnoe auf dem milzlosen Tier ein.
	450	Beide Tiere zeigen gleichstarke inspiratorische Einziehungen bei vermehrter Frequenz.

Verhalten des operierten Tiers	Manometer-druck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Nimmt Orthopnoe auf dem Normaltier ein, die Frequenz ist sehr erhöht. Auffallend starke inspirat. Einziehungen.	440	
Das Tier atmet ruckweise.	430	Kratzt sich.
	420	Kratzt sich wieder. Die Atmung ist sehr frequent; starke inspirat. Einziehungen.
Atmung sehr oberflächlich und frequent, mit starken inspirat. Einziehungen.	415	
	400	Die Atmung wird auch ruckartig. Das Tier geht dann umher.
Das Tier sinkt langsam zusammen und versucht umherzukriechen.	390	
Kriecht mit gespreizten Beinen umher und bleibt dann wie tot liegen; die Augen sind geschlossen. Die Atmung, die schon beim Normaltier frequent ist, ist hier wenigstens noch zweimal rascher. Dazu Incontinentia alvi et urinae.	380	Sitzt in Normalstellung mit frequenter Atmung ruhig da. Dazu starke inspiratorische Einziehungen. Die Lidspalte ist normal weit.

Ich unterbreche hier den Versuch. Beim Luftzulassen kratzt sich das Normaltier. Das operierte sitzt ganz apathisch da, nachdem es sich bei 430 wieder erhoben hatte.

Tabelle IV.

Versuch 22 vom 6. Juli 1917.

Gebraucht werden ein milzloses Tier, das vor 2 Tagen operiert wurde. Ferner ein Normaltier. Zur CO_2-Absorption wurde ein Behälter mit 30% KOH angebracht.

Dauer des Versuchs . . . . 23 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . . . 713 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke 20°
Atemfrequenz des Normaltiers . . 74
" " milzlosen Tiers 76

Die Tiere sitzen ruhig beisammen. Im allgemeinen kratzt sich das Normaltier mehr und ist unruhiger.

Verhalten des milzlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Die Atmung wird frequenter, oberflächlicher.	600	
	550	Schüttelt den Kopf.
Wird unruhig; nimmt dann Orthopnoe auf dem Normaltier ein.	530	
Geht unruhig umher.	520	
	510	Geht auch umher.
Die Atemfrequenz ist etwa zweimal rascher als beim Normaltier. Dazu deutl. inspirat. Einziehungen.	500	
	460	Kratzt sich an den nackten Körperstellen; die Atmung ist tief, mit kleinen inspiratorischen Einziehungen.
	390	Auf Schlag an die Glasglocke reagieren beide Tiere gleich stark.
Die Atmung ist noch immer so frequent, noch immer so starke inspiratorische Einziehungen.	370	
	360	Das Tier nimmt Orthopnoe ein.
	350	Geht umher und ist unruhig.
Zuckt auf Schlag an die Glasglocke viel stärker zusammen als das Normaltier.	340	
Legt sich ohne Erregung langsam auf die Seite und bleibt so liegen. Dazu Incontinentia alvi et urinae.	330	Nimmt Orthopnoe auf dem am Boden liegenden milzlosen Tier ein.
	310	Fällt ebenfalls nach kurzer Erregung, steht aber sogleich wieder auf.
Äußerst tiefe, inspirator. Einziehungen mit sehr frequenter Atmung.	300	Nimmt wieder Orthopnoe ein.
Steht wieder auf; die Atmung ist etwa dreimal rascher als beim Normaltier. Zuweilen erfolgt ein tiefer Atemzug, dann tritt für einige Augenblicke Atemstillstand ein.	290	
	285	Geht sehr erregt umher.
Sinkt wieder auf den Bauch zu Boden. Auf Schlag an die Glasglocke zuckt es sehr stark mit dem ganzen Körper zusammen.	280	

Verhalten des milzlosen Tisrs	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Versucht sich zu erheben, kann aber nur den Kopf auf den Rücken des Normaltiers legen und bleibt in dieser Orthopnoe.	250	
Nach einigen Versuchen kann sich das Tier erheben, geht äußerst erregt umher, steht auf den Hinterbeinen und fällt rücklings. Dann bleibt es auf dem Bauche liegen und läßt Harn und Kot unter sich. Das Tier macht einen ganz moribunden Eindruck.	240	Geht auch erregt umher, sitzt aber dann in Normalstellung wieder nieder. Nach kurzer Zeit nimmt es Orthopnoe auf dem gefallenen operierten Tier ein und bleibt so.

Der Versuch wird hier unterbrochen. Beim Luftzulassen erhebt sich das milzlose Tier bei 320 wieder. Das andere sitzt ruhig da, nachdem es bei 320 die Orthopnoe aufgeben mußte. Dann verfallen beide in schlafähnlichen Zustand.

Dieser Versuch mit einem anderen milzlosen Tier bestätigt die Resultate der vorangehenden Experimente. Obschon im Verhalten des milzlosen und des normalen Tiers ein deutlicher Unterschied vorhanden ist, bietet dieser Versuch dennoch etwas Auffallendes. Der kritische Punkt tritt erst bei einem Druck ein, wo sonst das Normaltier längst zusammenfiel; hier kommt es erst ins letzte Erregungsstadium, nur das milzlose Tier kollabiert. Wir müssen zur Erklärung dieser Erscheinung wohl annehmen, daß die Luft im Beginn des Versuchs sehr sauerstoffreich war. Ein Evakuieren auf einen sehr niedrigen Druck konnte deshalb länger ertragen werden, als es sonst der Fall ist. Umgekehrt können wir in diesem Verhalten einen weitern Beweis dafür erblicken, daß der Atmosphärendruck für das Eintreten der Symptome keine Rolle spielt, sonst müßte der kritische Punkt immer bei ein und demselben Druck eintreten, ganz unabhängig vom O_2-Gehalt. Im übrigen war der Versuch typisch; die Ergebnisse stimmen vollständig mit den früher erhaltenen Resultaten überein.

Tabelle V.

Versuch 23 vom 6. Juli 1917.

Es werden ein vor 2 Tagen entmilztes Tier und dasselbe Normaltier gebraucht.

Dauer des Versuchs . . . . 25 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . . . 713 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke 22°

Atemfrequenz des Normaltiers . . 78
" " milzlosen Tiers 94

Zur CO_2-Absorption wurde ein Behälter mit 30% KOH angebracht. Es ist merkwürdig, daß die Atemfrequenz beim Normaltier sozusagen wieder gleich wurde wie vor dem Versuch 23, während sie beim milzlosen Tier merklich gestiegen ist.

Verhalten des milzlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Die Atmung ist langsamer als im Beginn. Sie ist dazu tief, mit deutl. inspirat. Einziehungen.	540	Die Atmung ist ganz ruhig und normal.
Das Tier zuckt plötzlich zusammen, dann lehnt es sich an das Normaltier. Die Atmung ist frequent, sehr starke inspir. Einziehungen.	450	
Die Frequenz ist etwa zweimal rascher als beim Normaltier. Nun wird vom milzlosen Tier Orthopneu eingenommen.	400	
	360	Läßt Kot.
	340	Wendet sich vom Licht ab.
Läßt den Kopf auf den Boden fallen.	320	
Sinkt langsam mit dem ganzen Körper zusammen und bleibt mit sehr starken inspirat. Einziehungen liegen.	300	
	290	Die Atmung wird tief, dazu inspirator. Einziehungen.
	260	Geht erregt umher.
Kriecht umher.	250	
Kann sich erheben. Beim Versuch zu gehen fällt das Tier zusammen und bleibt liegen. Es macht noch einige ruckförmige Bewegungen.	240	
	230	Geht unruhig umher, läßt den Kopf dann auch sinken, verbleibt sonst aber in Normalstellung.

Ich unterbreche hier den Versuch. Beim Luftzulassen verhalten sich beide Tiere ruhig, nachdem sich das milzlose bei 300 wieder erhoben hatte.

Auch dieser Versuch bietet nichts Besonderes; nur trat auch hier der kritische Punkt bei sehr niedrigem Druck ein. Wir erklären uns dieses Verhalten wie beim vorangehenden Versuch 22. Die beiden splenektomierten Tiere starben inzwischen an einer Nahrungsintoxikation. Die Sektion ergab nichts Besonderes. Nur die Lungen waren wenig bluthaltig, der Magen dagegen stark vergrößert und gebläht.

Tabelle VI.

Versuch 24 vom 17. Juli 1917.

Es wird ein vor 5 Tagen entmilztes und ein Normaltier gebraucht

Dauer des Versuchs . . . . 18 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 715 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . 22°
Atemfrequenz des Normaltiers . . 80
" " milzlosen Tiers . 96

Zur CO_2-Absorption ist ein Behälter mit 30 % KOH angebracht. Die Tiere sitzen ruhig da; das milzlose hat Hämaturie.

Verhalten des milzlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Kratzt sich an den nackten Körperstellen.	610	
Nimmt Orthopnoe auf dem Normaltier ein.	570	
	540	Kratzt sich.
Auf Schlag an die Glocke geht es unruhig umher, dann nimmt es wieder Orthopnoe ein.	520	
	510	Deutliche inspirator. Einziehungen mit vermehrter Frequenz.
Geht wieder unruhig umher, Atmung sehr frequent und oberflächlich.	500	
Geht wieder schnüffelnd und sehr unruhig umher.	480	
Die Lidspalte öffnet sich sehr stark; unruhiges Umhergehen.	470	Kratzt sich.
	450	Kratzt sich wieder.
Wendet sich vom Licht ab und nimmt Orthopnoe auf dem Normaltier ein.	440	
Sinkt auf den Bauch und kriecht mühsam umher mit sehr frequenter, oberflächlicher Atmung. Starke inspirator. Einziehungen.	400	

Verhalten des milzlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Erhebt sich und steht auf den Hinterbeinen, fällt hinten über und bleibt liegen.	370	
	350	Geht mit starken inspirator. Einziehungen umher und läßt Kot.
Äußerst starke inspirator. Einziehungen.	340	
Erhebt sich wieder, geht dann sehr erregt umher, steht auf den Hinterbeinen und fällt wieder rücklings. Es bleibt sozusagen atemlos liegen und läßt massenhaft Kot.	320	Sitzt ruhig da mit frequenter Atmung und starken inspirator. Einziehungen.

Der Versuch wird unterbrochen. Bei einem Druck von 420 mm Hg erhebt sich das milzlose Tier wieder beim Luftzulassen. Dann verfällt es in schlafähnlichen Zustand, währenddem sich das Normaltier am ganzen Körper kratzt und munter ist.

Wir sehen hier wieder in äußerst frappanter Weise, wie das milzlose Tier auf O_2-Mangel viel empfindlicher ist als ein normales Tier. Es scheint übrigens, als ob die größere Empfindlichkeit O_2-Mangel gegenüber erst einige Tage nach der Operation richtig zum Ausdruck komme. Die Folge der Splenektomie würde also nicht sofort wirksam werden, sondern erst geraume Zeit nachher. — Bestätigt sich diese Ansicht (denn aus diesen Versuchen kann es nicht sicher behauptet werden), so würde das nur noch besser mit unserer Erklärung übereinstimmen; diese Theorie wird im nächsten Kapitel erörtert werden.

Tabelle VII.

Versuch 25 vom 18. Juli 1917.

Gebraucht werden: Ein milzloses Tier, operiert vor 6 Tagen, und ein Normaltier.

Dauer des Versuchs . . . . 22 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . . . 718 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . 25°
Atemfrequenz des Normaltiers . . 86
" " milzlosen Tiers . 112

Zur CO_2-Absorption wurde ein Behälter mit 30% KOH angebracht. Das milzlose Tier hat kein Blut mehr im Urin. Beide Tiere sitzen ruhig da.

Verhalten des milzlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Die Atmung wird etwas langsamer, aber tiefer. Leichte inspiratorische Einziehungen.	600	
	570	Leichte inspiratorische Einziehungen mit vermehrter Frequenz.
Geht schnüffelnd umher. Die Einziehungen werden viel stärker.	520	
Nimmt Orthopnoe auf dem Normaltier ein.	510	Die Atmung wird frequent.
Die Atemfrequenz beträgt mindestens 200! Noch immer Orthopnoe.	500	
Äußerst auffälligeDyspnoe, der ganze Körper arbeitet bei jeder Inspiration kräftig mit.	480	
	460	Kratzt sich.
	440	Sehr starke inspiratorische Einziehungen bei frequenter Atmung.
Liegt noch immer in Orthopnoe auf dem Normaltier. Reagiert auf Schlag an die Glocke viel stärker als das Normaltier. Die Dyspnoe ist noch hochgradiger; der Kopf zuckt bei jeder Inspiration stark nach vorn.	430	
Stellt sich an der Wand der Glasglocke in fast senkrechter Orthopnoe auf.	400	
Sinkt zusammen und geht kriechend umher. Atmung sehr tief, mit starken inspiratorischen Einziehungen, sehr frequent.	370	
	350	Geht mit starken inspiratorischen Einziehungen kurz umher.
Liegt auf dem Bauch mit etwa 2mal langsamerer Atmung als das Normaltier; dafür ist die Atmung sehr tief.	340	
Will stehen, fällt aber um.	320	Atmung wird sehr frequent, die Einziehungen nehmen noch zu.
Ruckartige Bewegungen; das Tier kann aber nicht stehen.	310	Geht erregt umher, steht auf den Hinterbeinen und nimmt dann Orthopnoe ein.
Kriecht schwankend umher und bleibt dann auf dem Bauch liegen.	300	

Der Versuch wird hier unterbrochen. Beim Luftzulassen kratzt sich das Normaltier, die Atmung wird bei 550 wieder ruhig und normal. Das operierte Tier bleibt noch einige Minuten mit kaum sichtbarer Atmung liegen. Dann nimmt es Normalstellung ein, die Atmung wird frequent wie vor dem Versuch, die Dyspnoe ist aber geschwunden.

Tabelle VIII.

Versuch 26 vom 18. Juli 1917.

Gebraucht werden: Ein vor 6 Tagen entmilztes Tier und ein Normaltier.

Dauer des Versuchs . . . . 21 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 718 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . . . . 25°
Atemfrequenz des Normaltiers 100
" " splenektomierten Tiers 130

Das operierte Tier liegt mit dem Kopf auf dem Normaltier in Orthopneu ganz apathisch da. Zur CO_2-Absorption ist ein Behälter mit 30 % KOH angebracht.

Verhalten des milzlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Die Atemfrequenz steigt bis über 200 hinaus.	600	
Zeigt Dyspnoe; zuckt bei jeder Inspiration mit dem Kopf nach vorn.	530	
	450	Atmung äußerst frequent; senkt den Kopf nach unten. Inspirat. Einziehungen.
Legt zuerst den Kopf nieder, dann sinkt der übrige Körper auch zusammen.	420	
	370	Das Tier erhebt den Kopf wieder, sitzt wieder in Normalstellung da.
Die Dyspnoe wird noch hochgradiger, die Atmung ganz langsam (etwa 70); der ganze Körper arbeitet bei jeder Inspiration mit.	360	
Liegt noch immer auf dem Bauch, aber legt den Kopf auf den Rücken des Normaltiers.	340	
	300	Geht kurz umher.
Geht ruckartig kriechend umher, vermag nicht sich zu erheben.	290	Sehr starke inspirator. Einziehungen.

Verhalten des milzlosen Tiers	Manometer-druck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Versucht sich zu erheben, kann aber nicht. Die Atemfrequenz beträgt nur etwa 60 bis 70. Die Atmung ist aber äußerst dyspnoisch.	270	Geht äußerst erregt umher, steht auf den Hinterbeinen, fällt aber noch immer nicht.
Schnellt in die Höhe, fällt und bleibt wieder liegen.	250	
	230	Steht auf den Hinterbeinen, fällt rücklings und geht dann kriechend umher. Dann erhebt sich das Tier wieder und sitzt in Normalstellung nieder.
Macht 2 bis 3 enorme Zukkungen mit dem ganzen Körper, dann steht die Atmung still.	220	Fällt nach kurzer Erregung rücklings hin und bleibt liegen.

Der Versuch wird unterbrochen. Beim Luftzulassen steht das Normaltier sofort wieder auf und kratzt sich. Das milzlose bleibt aber wie tot liegen. Auf künstliche Atmung hin kommt es schließlich wieder zu sich und sitzt dann reaktionslos da.

Ich nahm mir vor, diesen Versuch bis zum äußersten durchzuführen. Dennoch ergaben auch die letzten Stadien nichts Neues. Da sich die Resultate dieser 8 Versuche nie widersprachen, so fand ich diese Untersuchungsreihe als beweisend genug. Einige Kontrollexperimente werde ich später noch protokollieren.

Ergebnisse dieser Versuchsreihe, Kritik, Theorie.

So konstant die Experimente mit schilddrüsenlosen Tieren ausfielen, so übereinstimmend fielen sie auch mit milzlosen Tieren aus. Nur sind die Resultate hier denjenigen der vordern Versuchsreihe gerade entgegengesetzt. Beobachteten wir dort ausgesprochene Gleichgültigkeit auf O_2-Mangel, so konnten wir hier das Gegenteil wahrnehmen. Freilich sind die Unterschiede zwischen dem Verhalten von Normaltieren und milzlosen nicht so frappant, wie es bei Versuchen mit schilddrüsenlosen Tieren der Fall war. Eine deutliche Differenz im Benehmen der Tiere ist aber auch hier vorhanden, so daß die Versuche ebenfalls als eindeutig und entscheidend zu verwerten sind.

Milzlose Tiere ertragen den O_2-Mangel viel schlechter als Normaltiere. Sie reagieren zuerst mit Unruhigwerden, mit

Erhöhung der Atemfrequenz, mit so kräftigen Inspirationen, daß die seitlichen Thoraxwandungen im Beginn einer jeden eingezogen werden. Dann nehmen die Tiere Orthopnoe ein, ein typisches Sympton für die Dyspnoe. Der Atmungstypus ändert sich unter Umständen wieder. Schließlich fallen die Tiere zusammen, zuweilen unter Atemstillstand. Die Normaltiere verhalten sich im allgemeinen gleich, nur daß bei ihnen die Symptome erst bei viel größerem O_2-Mangel eintreten. Ein milzloses Tier fällt z. B. zusammen (was dem letzten Stadium gleichkommt), bevor ein Normaltier ins Erregungsstadium vor dem Umfallen kommt.

Wir können, um uns kurz zu fassen, sagen, daß sich milzlose Tiere bei O_2-Mangel Normaltieren gegenüber umgekehrt verhalten, wie Normaltiere sich gegen schilddrüsenlose verhalten. Hier eine Unempfindlichkeit auf O_2-Mangel, dort eine Überempfindlichkeit. — Der einzige Unterschied im Verhalten besteht darin, daß milzlose Tiere vor dem Zusammenfallen kein Erregungsstadium zeigen wie die Normaltiere. —

Für diese Versuche können die gleichen Einwände gemacht werden wie für diejenigen mit schilddrüsenlosen Tieren. Es gelten hier aber auch dieselben Entgegnungen. Im andern Sinne bieten sich hier aber auch wieder die gleichen Vorteile. Ich verweise daher auf das diesbezüglich Gesagte von früher. Auch hier wurden immer solche Ratten entmilzt, die vorher als Normaltiere gebraucht wurden; es sind also Unterschiede im Verhalten auf O_2-Mangel nur durch die Operation bedingt.

Diese Experimentalreihe ergab hauptsächlich zweierlei:

1. Splenektomierte Ratten sind auf O_2-Mangel viel empfindlicher als normale Tiere. Die Milz scheint demnach ein Organ zu sein, das die allgemeine Zelloxydation hemmt. Oder anders ausgedrückt, sie hat eine Funktion, welche die oxydationsfördernde Komponente des Schilddrüsensekretes kompensiert.

2. Somit ist die Milz auch in betreff des O_2-Stoffwechsels als Antagonist der Schilddrüse aufzufassen.

Wie lassen sich diese Ergebnisse mit unserer aufgestellten Theorie nun vereinbaren? Diese Resultate auf unsere Erklärung angewandt, würden ergeben: Wir haben gesehen, daß bei O_2-Mangel ein normales Tier eine Steigerung des Stoffwechsels hat. Diese vermehrte Stoffwechseltätigkeit schrieben wir einem

die oxybiontischen Vorgänge fördernden Faktor zu, der im Schilddrüsensekret enthalten sei. Fehle die Thyreoidea, so falle dieses oxydationsfördernde Agens weg. — In der Milz nun müssen wir dieser Ansicht nach eine Komponente annehmen, die derjenigen des Schilddrüsensekrets in ihrer Wirkung entgegengesetzt ist. Es müßte also ein wirksames Prinzip sein, das die Zelloxydation hemmte. Beim Fehlen der Milz und beim Vorhandensein der Schilddrüse würde dann folgender Mechanismus in Tätigkeit treten: Das in der Milz enthaltene oxydationshemmende Prinzip kommt in Wegfall; es wirkt nur noch sein Antagonist, das oxydationsfördernde Schilddrüsenagens. Das Resultat müßte demnach ein größerer O_2-Verbrauch und ein größeres O_2-Bedürfnis sein. Also wäre auch der Stoffwechsel und Eiweißzerfall größer. Das bedeutet, mit andern Worten gesagt, daß milzlose Tiere gegenüber O_2-Mangel viel empfindlicher sind als normale.

Die Resultate dieser zweiten Versuchsreihe haben uns dazu bestimmt, die Mansfeldsche Anschauung über den Angriffspunkt des O_2-Mangels einer Experimentalkritik zu unterziehen. Würden sich die Vorgänge auf die verhältnismäßig einfache Weise erklären, wie es Mansfeld annimmt, so müßte bei milzlosen Tieren, da die Schilddrüse ja intakt ist, der O_2-Mangel denselben Effekt auslösen wie bei Normaltieren. Dem ist nun aber nicht so, wie ein Blick auf die Tabellen deutlich zeigt. Um einerseits zu beweisen, daß der Angriffspunkt des Sauerstoffmangels nicht in der Schilddrüse direkt sein kann und um anderseits zu prüfen, ob sich unsere Auffassung bestätige, wurden neue Versuche unternommen. Es wurden nämlich Schilddrüse und Milz zugleich exstirpiert. Unserer Theorie nach müßten sich solche Tiere gleich verhalten wie Normaltiere. Mansfelds Ansicht nach aber müßte, da die Schilddrüse ja fehlt, der O_2-Mangel vom Versuchstier als gleichgültig ertragen werden.

III. Versuche mit schilddrüsenlosen und zugleich milzlosen Tieren.

Als Versuchstiere wurden wieder weiße Ratten verwendet.

Die Operation.

In einer Sitzung wurde zuerst die Milz, dann die Schilddrüse weggenommen, beides in der schon beschriebenen Methode. Die Tiere überstanden diese Operation gut. Heilung nach 5 bis 7 Tagen.

Versuche.

Tabelle I.

Versuch 17 vom 25. Juni 1917.

Gebraucht wurden ein schilddrüsen- und milzloses Tier, das vor 3 Tagen operiert wurde, ferner ein Normaltier.

Dauer des Versuchs	25 Minuten
Tagesbarometerstand	718 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke	24°
Atemfrequenz des Normaltiers	78
„ „ doppelt operierten Tiers	62

Zur CO^2-Absorption wurde ein Behälter mit 30% KOH angebracht. Die Tiere sitzen ruhig beisammen; das operierte zeigt merkwürdig tiefe, langsame Atmung.

Verhalten des doppelt operierten Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Geht schnüffelnd umher.	610	
	600	Geht schnüffelnd umher und nimmt Orthopnoe auf dem operierten Tier ein.
Die Atmung wird tiefer, etwas frequenter; leichte inspirator. Einziehungen.	590	Leichte inspiratorische Einziehungen. Die Atmung ist tiefer als zum Beginn des Versuchs.
Kratzt und leckt sich an den nackten Körperstellen.	570	
Geht unruhig, schnüffelnd umher.	550	
	540	Kratzt sich und nimmt Orthopnoe auf dem operierten Tier ein.
Die Atmung ist frequent mit starken inspirator. Einziehungen.	520	
	510	Die Atmung wird frequent, starke inspiratorische Einziehungen. Noch immer Orthopnoe.
	500	Geht unruhig umher und nimmt wieder Orthopnoe ein.
Kratzt sich und geht schnüffelnd umher. Sehr frequente Atmung.	480	
	470	Die Atmung ist eben so frequent wie beim operierten Tier. Sehr starke inspiratorische Einziehungen.

Verhalten des doppelt operierten Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des Normaltiers
Wendet sich vom Licht ab.	460	Wendet sich ebenfalls vom Licht ab.
Macht ruckartige Inspirationen.	450	Kratzt sich, schnüffelt, ruckweise Atmung.
Geht unruhig umher, nimmt dann Orthopnoe auf dem Normaltier ein.	440	
Starke inspiratorische Einziehen, Atmung sehr frequent.	420	Macht ruckartige Bewegungen, geht kurz umher und nimmt dann Orthopnoe auf dem operierten Tier ein. Die Atmung ist sehr frequent, mit starken inspiratorischen Einziehungen.
Geht auf die Seite und nimmt Orthopnoe auf dem Normaltier ein.	380	
Geht unruhig umher.	370	Geht unruhig umher.
Steht auf den Hinterbeinen.	360	Sehr hohe Atemfrequenz.
Atmung frequent mit sehr starken inspiratorischen Einziehungen.	350	Die Atemfrequenz ist noch rascher als beim operierten Tier. Sehr starke inspiratorische Einziehungen. Geht unruhig umher, steht auf die Hinterbeine und nimmt dann Orthopnoe auf dem operierten Tier ein.
Geht äußerst erregt umher.	320	Geht äußerst erregt umher.
	300	Steht auf die Hinterbeine, schnappt nach Luft, fällt hinten über und bleibt liegen. Incontinentia urinae.
Steht auf den Hinterbeinen und schnappt nach Luft. Dann fällt es hintenüber, erhebt sich noch einmal und fällt wieder. Jetzt bleibt es auch liegen.	290	
Liegt mit kaum sichtbarer Atmung da.	280	Liegt wie tot da.

Der Versuch wird hier unterbrochen. Beim Luftzulassen erhebt sich das Normaltier bei 350, das operierte bei 355. Beide atmen sehr frequent und tief. Kratzen sich. In Normalluft verfallen sie in schlafähnlichen Zustand. Normalstellung.

Dieser Versuch bestätigt in äußerst instruktiver Weise unsere Erwartungen: Das operierte und das Normaltier zeigen sozusagen immer gleichzeitig genau dieselben Symptome. Die Tiere verhalten sich auf O_2-Mangel absolut gleich.

Tabelle II.

Versuch 18 vom 27. Juni 1917.

Es werden gebraucht: Ein schilddrüsen- und milzloses Tier, operiert vor 5 Tagen, und ein schilddrüsenloses Tier, operiert vor 21 Tagen.

Dauer des Versuchs . . . . 25 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 714 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . . . . 23^{0}
Atemfrequenz des schilddrüsenlosen Tiers . . . 64
" " schilddrüsen- u. milzlosen Tiers 58

Zur CO_2-Absorption wurde ein Behälter mit 30 % KOH angebracht. Die Atmung des doppelt operierten Tiers ist tiefer als diejenige des schilddrüsenlosen.

Verhalten des schilddrüsenlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des schilddrüsen- und milzlosen Tiers
	660	Schnüffelt und kratzt sich.
	650	Nimmt Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier ein.
	640	Die Atemfrequenz nimmt zu, sie beträgt etwa 70.
	510	Wird etwas unruhig. Noch immer Orthopnoe. Die Atmung ist in puncto Tiefe und Frequenz wie beim schilddrüsenlosen Tier.
	490	Die Atemfrequenz nimmt zu.
	480	Wendet sich vom Licht ab und nimmt wieder Orthopnoe ein.
	470	Die Atmung wird noch frequenter, etwa 2 mal rascher als beim schilddrüsenlosen Tier. Dazu ist sie oberflächlich.
Die Atmung wird etwas tiefer als zum Beginn des Versuchs.	450	
	440	Zur frequenten Atmung kommen noch starke inspiratorische Einziehungen. Noch immer Orthopnoe.
	430	Geht umher und setzt sich dann in Normalstellung mit frequenter, oberflächlicher Atmung neben dem schilddrüsenlosen Tier nieder.
Die Atmung wird etwas rascher und zugleich oberflächlicher.	420	Läßt Kot.
	400	Die Atmung geht mühsam, ruckweise.
	390	Nimmt wieder Orthopnoe ein mit frequenter, oberflächlicher Atmung und starken Einziehungen.
	380	Reagiert stärker auf Schlag an die Glasglocke als das schilddrüsenlose Tier. Bleibt dabei immer noch in Orthopnoe.
	370	Geht umher, steht auf den Hinterbeinen, dann wieder Normalstellung.
Atmung frequent und oberflächlich; keine inspirator. Einziehungen. Geht dann schnüffelnd umher.	360	

Verhalten des schilddrüsenlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des schilddrüsen- und milzlosen Tiers
	350	Fällt auf die Seite, erhebt sich wieder und nimmt Normalstellung ein.
	340	Geht ruckweise umher und fällt dann. Atmung langsam und oberflächlich, ohne inspiratorische Einziehungen.
	330	Die inspiratorischen Einziehungen kommen wieder.
	320	Erhebt sich wieder und steht auf den Hinterbeinen; dann Normalstellung.
	310	Steht wieder auf den Hinterbeinen und fällt hintenüber, erhebt sich aber sogleich wieder. Dann nimmt es Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier ein, das ruhig da sitzt.
	300	Atmung sehr tief, langsam, starke inspiratorische Einziehungen.
Wendet sich und nimmt nun seinerseits Orthopnoe ein auf dem doppelt operierten Tier. Atmung etwas frequent mit leichten inspiratorischen Einziehungen.	290	
	280	Schnellt plötzlich in die Höhe, dann wieder Normalstellung.
Geht erregt umher, steht auf den Hinterbeinen, fällt hintenüber, aber erhebt sich sogleich wieder und nimmt Normalstellung ein. Atmung sehr frequent mit äußerst starken inspiratorischen Einziehungen.	270	
Sitzt in Normalstellung ruhig da mit frequenter Atmung und sehr starken inspirator. Einziehungen.	260	Schnellt plötzlich wieder in die Höhe, überschlägt sich, geht dann noch kurz orientierungslos in äußerster Erregung umher. Dabei fällt das Tier oft zusammen. Schließlich bleibt es wie tot liegen, mit kaum sichtbarer Atmung und starkem Exophthalmus.

Der Versuch wird hier unterbrochen. Beim Luftzulassen erhebt sich das schilddrüsen- und milzlose Tier bei 300 wieder und kratzt sich von 500 an sehr lebhaft. Das schilddrüsenlose sitzt mit frequenter Atmung still da.

Wir können auch hier beobachten, daß sich das schilddrüsen- und milzlose Tier so verhält wie ein Normaltier. Es kollabiert bei einem niedrigeren Druck als milzlose Tiere, aber dennoch bevor schilddrüsenlose Tiere ins letzte Erregungsstadium kommen. Ein solches Verhalten zeigen nur noch Normaltiere. —

Schließlich seien noch 3 weitere Versuche protokolliert, die zugleich als Kontrollexperimente für die ganze Arbeit gelten können.

Tabelle III.

Versuch 19 vom 27. Juni 1917.

Gebraucht werden 3 Tiere: Ein schilddrüsenloses, operiert vor 21 Tagen, ein schilddrüsen- und milzloses, operiert vor 5 Tagen, und ein Normaltier.

Dauer des Versuchs . . . . 24 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 714 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . . . . 24°
Atemfrequenz des Normaltiers 74
" " schilddrüsenlosen Tiers . . . 62
" " " und milzlosen Tiers 58

Zur CO_2-Absorption wurde ein Behälter mit 30°/₀ KOH angebracht. Die 3 Tiere sitzen ruhig beisammen.

Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des schilddrüsenlosen Tiers	Verhalten des schilddrüsen- und milzlosen Tiers	Verhalten des Normaltiers
620			Nimmt Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier ein.
540			Die Atmung wird etwas oberflächlich.
510	Reagiert nicht auf Schlag an die Glasglocke.	Reagiert stark auf Schlag an die Glasglocke.	Geht schnüffelnd umher. Reagiert stark auf Schlag an die Glasglocke.
490	Die Atmung wird tiefer.		
480			Die Atmung wird frequent, mit inspir. Einziehungen. Nimmt dann wieder Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier ein.
470		Geht umher. Die Atmung wird tiefer. Nimmt ebenfalls Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier ein.	
450	Die Atmung ist etwas tiefer als im Beginn des Versuchs.	Sitzt (liegt) in Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier, mit frequenter Atmung und inspiratorischen Einziehungen.	Sitzt in Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier mit frequenter Atmung und inspir. Einziehungen.
430		Kratzt sich und geht umher; nimmt wieder Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier ein.	Geht umher und kratzt sich dann.

Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des schilddrüsenlosen Tiers	Verhalten des schilddrüsen- und milzlosen Tiers	Verhalten des Normaltiers
420		Geht wieder umher und nimmt wieder Orthopnoe ein.	Nimmt wieder Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier ein.
400	Atmung tief, mit inspirat. Einziehung.	Atmung oberflächlich und sehr frequent. Inspiratorische Einziehungen.	Atmung sehr frequent mit inspirator. Einziehungen.
380		Geht umher und nimmt dann wieder Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier ein, das ruhig dasitzt.	Geht einige Sekunden später auch umher, dann ebenfalls Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier.
350			Geht kurz umher, dann wieder Orthopnoe.
330		Geht sehr erregt umher, mit frequenter, oberflächlicher Atmung. Dann wieder Orthopnoe.	Geht auch sehr erregt umher, mit sehr frequenter, oberflächlicher Atmung. Dann auch Orthopnoe.
300		Geht wieder äußerst unruhig umher, Atmung sehr frequent und oberflächlich.	Geht auch sehr erregt umher mit unruhiger, oberflächlicher Atmung. Steht auf den Hinterbeinen, fällt hintenüber u. bleibt liegen.
290		Steht auf den Hinterbeinen und fällt hintenüber; Versuche, sich zu erheben, bleiben erfolglos.	
280	Sitzt ganz ruhig mit frequenter, tiefer Atmung da.	Erhebt sich, geht äußerst erregt ziellos umher, fällt und bleibt wie tot liegen.	Erhebt sich etwa 20 Sekunden später auch, steht auf den Hinterbeinen, geht äußerst erregt umher und fällt auch. Bleibt mit kaum sichtbarer Atmung liegen.

Der Versuch wird unterbrochen. Beim Luftzulassen erhebt sich das Normaltier bei einem Druck von 350 mm Hg wieder, das schilddrüsen- und milzlose Tier bei 360. Das thyreoidektomierte Tier sitzt ruhig da, mit frequenter Atmung. In Normalluft kratzt es sich lebhaft, während das normale und das doppelt operierte Tier in schlafähnlichen Zustand verfallen, beide hochgradig erschöpft.

Dieser Versuch zeigt in äußerst frappanter Weise, daß sich ein schilddrüsen- und milzloses Tier genau so wie ein Normaltier verhält bei O_2-Mangel. Ferner zeigt er ebenso deutlich die Unempfindlichkeit des schilddrüsenlosen Tiers bei vermindertem O_2-Gehalt der Atmungsluft, in einem Stadium, wo normale und doppelt operierte Tiere dem Erstickungstod nahe sind. Dieses Experiment bestätigt unsere bisherigen Resultate in allen Teilen.

Tabelle IV.

Versuch 21 vom 28. Juni 1917.

Gebraucht werden: Ein vor 22 Tagen operiertes schilddrüsenloses Tier, ein schilddrüsen- und milzloses, operiert vor 6 Tagen, und ein normales Tier.

Dauer des Versuchs . . . . 22 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 713 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . . . . 28°
Atemfrequenz des Normaltiers 85
" " schilddrüsenlosen Tiers 66
" " " u. milzlosen " 58

Zur CO_2-Absorption wurde ein Behälter mit 30 % KOH angebracht. — Die Tiere sitzen ruhig beisammen.

Manometer-druck in mm Hg	Verhalten des schilddrüsenlosen Tiers	Verhalten des schilddrüsen und milzlosen Tiers	Verhalten des Normaltiers
560			Schnüffelt.
540			Schnüffelt und nimmt dann Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier ein.
480		Die Atmung wird frequent, starke inspiratorische Einziehungen.	Geht erregt umher; nimmt dann wieder Orthopnoe ein.
430			Atmung wird frequent, mit inspirator. Einziehungen.
410		Geht schnüffelnd umher. Nimmt dann auch Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier ein. Atmung sehr frequent, mit starken inspirator. Einziehungen.	
400	Sitzt ganz ruhig mit normaler Atmung da.		Die Atemfrequenz nimmt zu.
360		Geht plötzlich erregt umher.	
340			Geht ebenfalls erregt umher.
300	Die Atmung wird etwas frequent.	Geht wieder erregt umher, springt dann plötzlich in die Höhe, fällt zusammen und bleibt liegen.	Geht auch erregt umher, nimmt dann Orthopnoe ein. Atmung sehr frequent und oberflächlich.
260	Geht ebenfalls unruhig umher, setzt sich in Normalstellung wieder nieder mit frequenter Atmung und leichten inspir. Einziehungen.		Verläßt die Orthopnoe ruckartig, springt auf, fällt und bleibt liegen. Starke inspiratorische Einziehungen. Läßt Kot und streckt die Beine von sich.
255		Erhebt sich wieder, geht kurz umher in äußerster Erregung, fällt und bleibt wie leblos liegen. Läßt Kot und Urin.	

Der Versuch wird unterbrochen. Beim Luftzulassen erhebt sich das doppelt operierte Tier bei 310 wieder und kratzt sich lebhaft. Das Normaltier bleibt wie gelähmt liegen bis zu 700. Bei Normalluft kratzen sich alle drei sehr lebhaft, das schilddrüsen- und milzlose und das normale Tier verfallen aber bald in schlafähnlichen Zustand; das thyreoidektomierte Tier geht umher, kratzt sich, verhält sich wie im Normalkäfig.

Dieser zweite Doppelversuch bestätigt in ebenso unzweideutiger Weise die erhaltenen Resultate. Geradezu typisch ist das gleichzeitige Auftreten der Symptome bei Normaltieren und doppelt operierten Tieren. Wir sind also wohlberechtigt, anzunehmen, daß sich doppelt operierte Tiere gleich verhalten wie Normaltiere.

Zum Schlusse dieser Experimentalserie sei noch ein Kontrollversuch als Beleg beigefügt:

Tabelle V.

Versuch 15 vom 21. Juni 1917.

Gebraucht werden: Ein vor 8 Tagen entmilztes Tier und ein schilddrüsenloses, operiert vor 15 Tagen.

Dauer des Versuchs . . . . 20 Minuten
Tagesbarometerstand . . . . 710 mm Hg
Temperatur unter der Glasglocke . . . . 25°
Atemfrequenz des milzlosen Tiers 78
" " schilddrüsenlosen Tiers 74

Zur CO_2-Absorption wurde ein Behälter mit 30% KOH angebracht. Die Tiere sitzen ruhig da, vom Licht abgewendet.

Verhalten des schilddrüsenlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des milzlosen Tiers
	670	Kratzt sich und geht umher.
	580	Die Atmung ist ruckförmig, mit deutlichen inspiratorischen Einziehungen.
	560	Geht unruhig umher, schnüffelt und nimmt Orthopnoe auf dem schilddrüsenlosen Tier ein.
	550	Ist erregt, macht ruckartige Bewegungen. Atmung tief und starke inspiratorische Einziehungen. Frequenz normal.
	520	Wieder ruckförmige Bewegungen; geht dann schnüffelnd umher. Die Einziehungen sind noch stärker.
	500	Kratzt sich.
	490	Steht auf den Hinterbeinen u. schnüffelt.
	480	Geht unruhig umher.
	460	Die Atemfrequenz nimmt zu, äußerst starke inspiratorische Einziehungen.
	450	Atmung sehr ruckförmig.

Verhalten des schilddrüsenlosen Tiers	Manometerdruck in mm Hg	Verhalten des milzlosen Tiers
	440	Schnappt nach Luft, auffallend frequente, tiefe Atmung.
	430	Die Atemfrequenz ist etwa 3 mal rascher als beim schilddrüsenlosen Tier.
Wendet sich. Atmung ganz ruhig und normal. Auf Schlag an die Glasglocke reagiert es nur mit den Ohren.	420	Sinkt langsam auf die Seite und bleibt liegen. Hochgradige Dyspnoe Auf Schlag an die Glasglocke zuckt es mit dem ganzen Körper zusammen.
	400	Liegt mit etwa 4 mal rascherer Atmung als das schilddrüsenlose Tier da. Auf Schlag an die Glasglocke springt es auf, fällt aber sogleich wieder zusammen.
Sitzt ganz ruhig in Normalstellung mit normaler Atmung da.	390	Liegt reaktionslos da, nur äußerst intensive inspiratorische Einziehungen. Frequenz etwa 4 mal rascher als beim Kontrolltier. Dazu incontinentia alvi et urinae.

Hier wird der Versuch unterbrochen. Beim Luftzulassen steht das milzlose Tier bei einem Druck von 450 mm Hg wieder auf und schnappt nach Luft. Dann kratzt es sich und verfällt in Normalluft in schlafähnlichen Zustand. Das schilddrüsenlose Tier sitzt ruhig da und kratzt sich dann lebhaft in normaler Luft.

Auch hier können wir das entgegengesetzte Verhalten bei O_2-Mangel in typischer Weise beobachten. Während das milzlose Versuchstier schon bei geringem O_2-Mangel dyspnoische Symptome zeigt und schon sehr früh kollabiert, beobachten wir am schilddrüsenlosen Tier absolut keine Veränderung, sei es Atmung, Lage oder Stellung.

Ergebnisse dieser Versuchsreihe, Kritik, Theorie.

Nachdem wir gesehen hatten, daß bei schilddrüsenlosen Tieren der O_2-Mangel kaum empfunden wird, und umgekehrt bei milzlosen Tieren eine Überempfindlichkeit darauf zu konstatieren ist, kamen wir zu dem Schlusse, daß bei schilddrüsen- und milzlosen Tieren ein gleiches Verhalten zu erwarten sei wie bei Normaltieren. Die vorliegenden Versuchstabellen tun dar, daß sich unsere Voraussetzungen als richtig erwiesen. Doppelt operierte Tiere zeigen in denselben Luftverdünnungen und somit in der gleichen O_2-Verarmung gleichzeitig dieselben Symptome wie normale Tiere. Das koinzidierende Auftreten dieses Verhaltens schließt jeden Zweifel aus. Die Tatsache steht also fest, daß sich ein schilddrüsen- und milzloses Tier auf O_2-Mangel gleich

verhält, wie ein Normaltier. Einen Unterschied beobachten wir nur bei der Atmung in Normalluft; hier ist die Atemfrequenz bei doppelt operierten Tieren niedriger als bei normalen.

Auf Grund dieser Resultate ist es ausgeschlossen, daß der O_2-Mangel unmittelbar an der Schilddrüse angreift, wie Mansfeld der Ansicht ist. Schon das Verhalten bei milzlosen Tieren sprach dagegen. Haben wir dort argumentiert, daß trotz vorhandener Thyreoidea das O_2-Bedürfnis ein größeres sei, so können wir hier sagen, daß es bei exstirpierter Thyreoidea dasselbe sei wie bei Normaltieren. Das alles steht zur Mansfeldschen Anschauung in einem offenbaren Widerspruch. Die Verhältnisse sind eben komplizierter; nicht nur die Schilddrüse spielt dabei eine Rolle. Einen ebenso großen Einfluß hat ihr Antagonist, die Milz. Erst bei Berücksichtigung dieser beiden Faktoren ist es möglich, Rückschlüsse zu ziehen und ein klareres Bild dieses komplizierten Mechanismus zu erhalten. Würde der O_2-Mangel tatsächlich an der Thyreoidea angreifen, so müßten sich doppelt operierte Tiere auf O_2-Mangel genau so verhalten wie schilddrüsenlose allein. Versuche mit thyreoidektomierten und doppelt operierten Tieren haben aber deutlich ganz verschiedene Resultate ergeben. Ebenso überzeugend gegen die Mansfeldsche Anschauung sprachen die Versuche mit milzlosen Tieren. Es fragt sich jetzt nur, ob die erhaltenen Resultate sich mit unserer Anschauung vereinbaren lassen. Im Grunde genommen haben wir diese Frage schon beantwortet, bevor wir die Ergebnisse dieser Versuchsreihe wirklich kannten; wir wollten ja zur Bestätigung unserer Voraussetzungen diese Experimente mit doppelt operierten Tieren unternehmen. Weil nun die Versuche unsere Annahme wirklich bestätigten, so würden sich die Erscheinungen folgendermaßen erklären:

Da die Thyreoidea ein Organ ist, das die oxydativen Zellvorgänge fördert, die Milz aber als Antagonist diese Oxydationstätigkeit der Zellen hemmt, so muß beim Wegfall beider Faktoren der status quo ante eintreten: Milz- und schilddrüsenlose Tiere zugleich verhalten sich wie Normaltiere. Ein Unterschied ist natürlich dennoch vorhanden. Normaltiere besitzen offenbar die Fähigkeit der Selbstregulation. Das heißt, bei anormaler Funktion des einen dieser beiden Faktoren reguliert die veränderte Tätigkeit des zweiten den eingetretenen gestörten

Mechanismus (was den O_2-Stoffwechsel betrifft). Somit ist, in bescheidenen Grenzen, ein Gleichgewichtszustand wieder hergestellt. Fehlen aber diese beiden Faktoren, so besteht wohl noch ein Gleichgewicht, die Regulationsfähigkeit ist aber wohl beträchtlich geschädigt. Wohlverstanden bezieht sich das alles nur auf kurzdauernden O_2-Mangel; daß sich die Folgen der Milz- und Schilddrüsenexstirpation in anderer Weise geltend machen werden, liegt auf der Hand. Es handelt sich hier ja nur darum, den Antagonismus dieser beiden Organe nachzuweisen. Leider wurde hier unterlassen zu untersuchen, wie sich Tiere verhalten, die früher entmilzt und erst in einer späteren Sitzung thyreoidektomiert wurden. Hier hätten wir es offenbar mit einem status quo ante mit gestörtem Gleichgewicht zu tun; es würde sich wohl ein größeres O_2-Bedürfnis geltend machen, da die Wegnahme des zweiten Faktors auf das ganze System bei gestörtem Gleichgewichtszustand eingreifen würde. Dies nach unserer Theorie. In der Tat können wir sehen, daß Dubois bei solchen Versuchen diese Resultate fand, die wir nur erwarteten. Umgekehrt wäre das Gleichgewicht gestört, wenn zuerst die Schilddrüse und erst nachträglich die Milz entfernt würden; auch hier würde der status quo eintreten, aber im Sinne einer Gleichgültigkeit auf O_2-Mangel.

Dieselben Einwände gegen diese Versuchsreihe sind ebenso berechtigt wie für die zwei vorderen Experimentalserien. Natürlich muß auch hier dasselbe entgegengehalten werden wie früher. Andrerseits sprechen diese Versuche gegen den Hinweis, daß sich durch die Thyreoidektomie die Lungenalveolen so, auf die Splenektomie aber anders verändert hätten. Allem Anschein nach können die Alveolen durch die Wegnahme des einen oder des andern Organs überhaupt nicht beeinflußt werden, sonst könnten wir hier nicht solche Resultate beobachten.

Schlußbetrachtungen, Zusammenfassung.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse dieser Arbeit wird am Schlusse noch folgen. Der Übersicht halber, und um die Resultate mit Dubois' Ergebnissen im Zusammenhang zu besprechen, sei vorläufig der mutmaßliche Mechanismus wiederholt, der uns die Befunde erklärt. Diese Hypothese lautet:

Die Schilddrüse ist ein Organ, das die Oxydationstätig-

keit der Zellen anregt und somit den allgemeinen Stoffwechsel fördert. Da nun O_2-Mangel die Thyreoidea zu vermehrter Tätigkeit anregt, die Zelloxydation und der allgemeine Stoffwechsel folglich zunehmen, so entstehen Produkte (giftige Eiweißderivate wie Peptone und Albumosen usw.), die ihrerseits zum weitern Abbau wieder mehr Sauerstoff benötigen. Dies wird darin zu erreichen gesucht, daß das Atemzentrum zu vermehrter Tätigkeit angeregt wird. Ist aber die Luft zu sauerstoffarm, so tritt keine Kompensation ein, und der Organismus geht an innerer Erstickung und Vergiftung zugrunde. Fehlt aber die Schilddrüse und somit das oxydationsfördernde Agens, so sind Zelloxydation und Stoffwechsel geringer. Daher wird von schilddrüsenlosen Tieren der O_2-Mangel viel weniger empfunden als von Normaltieren. — Bei milzlosen Tieren beobachten wir viel größere Empfindlichkeit auf O_2-Mangel als bei Normaltieren. Wir erklären uns das dadurch, daß die Milz ein Agens (Hormon) abgibt, das demjenigen der Thyreoidea in seiner Wirksamkeit entgegengesetzt ist. Dieses Milzagens hemmt also die oxydativen Zellvorgänge, der O_2-Verbrauch ist demnach ein geringerer. Fehlt aber die Milz, so wird dieses wirksame Prinzip nicht mehr geliefert, der die Oxydation hemmende Faktor fällt aus. Es wirkt nur noch das Schilddrüsenagens, der Antagonist des wirksamen Prinzips der Milz. Das bedingt, daß die Oxydationstätigkeit jeder Zelle erhöht wird, der O_2-Verbrauch also ein gesteigerter ist. Dieses vermehrte O_2-Bedürfnis seinerseits kann nur durch vermehrte O_2-Aufnahme kompensiert werden. Bei O_2-Mangel muß deshalb Dekompensation eintreten, die sich darin äußert, daß die Tiere früher an Erstickungserscheinungen zusammenbrechen als Normaltiere. — Fehlen aber Schilddrüse und Milz zugleich, so fallen auch die sich gegenseitig hemmenden Faktoren außer Betracht. Es tritt der status quo ante ein, das heißt, milz- und schilddrüsenlose Tiere verhalten sich auf O_2-Mangel wie Normaltiere. Das Gleichgewicht des Organismus auf den O_2-Stoffwechsel besteht wohl noch, die Regulationsfähigkeit ist aber wahrscheinlich herabgesetzt.

Wie verhalten sich aber unsere Ergebnisse zu denjenigen der Arbeit von Dubois? — Finden wir Analogien und ist unsere Hypothese wahrscheinlich, so muß sie auch auf die Resultate dieser letzteren Forschungen anwendbar sein. Der

innere Zusammenhang wäre dann erklärt, und die Annahme eines Antagonismus zwischen Milz und Schilddrüse um einen ferneren Beweis gefestigt. So scheinbar verschieden auf den ersten Blick die Untersuchungsgebiete auch sind (dort Blutbildung, hier O_2-Verbrauch), so werden wir doch bald sehen, daß wir es dabei mit Vorgängen zu tun haben, die in innigem Zusammenhang zueinander stehen. Nach Dubois' Versuchen wirkt die Schilddrüse im Sinne einer Erregung, die Milz im Sinne einer Hemmung, was die Blutbildung anbelangt. Nach der vorliegenden Arbeit wirkt die Schilddrüse ebenfalls im Sinne einer Erregung und die Milz im Sinne einer Hemmung, was den O_2-Verbrauch anbelangt. Wie kommt es nun, daß wir auf so scheinbar verschiedenen Gebieten gleichlautende Resultate erhalten? Wir wissen, daß die roten Blutkörperchen die Träger des Sauerstoffs sind. Steigt demnach die Zahl dieser Erythrocyten, so ist die Möglichkeit einer vermehrten O_2-Aufnahme gegeben — und umgekehrt. Erregt nun die Schilddrüse das Knochenmark zu vermehrter Tätigkeit, so kann das Blut auch mehr Sauerstoff aufnehmen. Es fragt sich jetzt nur, was das Primäre dieser zusammenhängenden Vorgänge sei, und wie dieser Mechanismus auf Grund unserer Hypothese verständlich ist? Wahrscheinlich spielt dabei die Zelloxydation die Hauptrolle, sie muß als primärer Faktor angesehen werden. Da aber dabei oxybiontisch hemmende und fördernde Vorgänge zu berücksichtigen sind, so erklärt sich der Mechanismus am einfachsten durch unsere Hypothese folgendermaßen: Die Schilddrüse fördert die oxydativen Zellspaltungen, die Oxydation jeder Zelle ist also erhöht. Der vermehrte O_2-Verbrauch kann nur durch vermehrte O_2-Aufnahme ausgeglichen werden. Im Dienste dieser Mehraufnahme steht neben unmittelbaren Vorgängen die Anregung des Knochenmarks, welche regulatorisch in die Bildung von Erythrocyten eingreift. Die Milz gibt ein Hormon ab, das die oxybiontischen Vorgänge hemmt, die Zelloxydation ist also vermindert. Deshalb wird das Knochenmark gehemmt, da entsprechend dem verminderten O_2-Verbrauch die Bildung roter Blutkörperchen herabgesetzt sein kann. — Die Wirkung sowohl der Schilddrüse wie der Milz aufs Knochenmark und auf den O_2-Verbrauch kommt also indirekt mit Hilfe eines bestimmten Agens (Hormons) zustande. Für diese Erklärung

sprechen auch die Tatsachen, daß vermehrte Knochenmarkstätigkeit und O_2-Bedürfnis immer Hand in Hand gehen. Beim Fehlen des einen oder des andern dieser zwei Organe erklären sich die Vorgänge ganz analog dieser Hypothese. Z. B.: Bei O_2-Mangel ist eine Zunahme weder der Erythrocyten noch des Hämoglobingehaltes bei schilddrüsenlosen Tieren zu konstatieren; die oxybiosefördernde Komponente fehlt, es wirkt nur die hemmende der Milz; der Sauerstoffverbrauch ist also geringer. Deshalb reagiert der Organismus bei O_2-Mangel nicht durch vermehrte Knochenmarkstätigkeit.

Wie gestalten sich ferner die Verhältnisse bei der Tatsache, daß künstlich anämisch gemachte, milzlose Tiere sich rascher erholen als Normaltiere? Bei milzlosen Tieren wirken nur die oxydationsfördernden Prinzipien der Schilddrüse. Somit wird die Zelloxydation erhöht, also auch der O_2-Verbrauch. Dieses erhöhte O_2-Bedürfnis regt das Knochenmark an, damit mehr Sauerstoff aufgenommen werden kann. Deshalb beobachten wir eine raschere Erholung von der Anämie.

Der Zusammenhang zwischen Blutbildung und Sauerstoffverbrauch ist also erklärt; beide sind abhängig von der Wirksamkeit zweier Hormone, die teils von der Schilddrüse, teils von der Milz geliefert werden und sich gegenseitig hemmen. Sie kommen zur Wirkung infolge der Stoffwechselvorgänge der einzelnen Zellen des Organismus.

Die Ergebnisse unserer Versuche zeigten, daß die Mansfeldsche Anschauung (der Sauerstoffmangel, das Carnotsche Serum, die blutbildende Wirkung des Höhenklimas greifen an der Schilddrüse direkt an), unwahrscheinlich ist. Würde dies wirklich zutreffen, so müßte bei milzlosen Tieren (vorhandene Schilddrüse) und bei schilddrüsen- und milzlosen das Verhalten auf O_2-Mangel ein ganz anderes sein, als wir es beobachtet haben. Die Resultate von Dubois und die meinigen lassen sich durchaus in Einklang bringen. Sowohl Schilddrüse und Milz spielen dabei eine Rolle; der Sauerstoff wirkt nicht direkt auf eines dieser beiden Organe, sondern indirekt durch zwei sich hemmende Komponenten.

Die Tatsachen, die ich gefunden habe, sind möglicherweise noch anderer Deutung fähig, als ich sie versucht habe; des hypothetischen Charakters bin ich mir bewußt. Feststehend

ist vor allem das gegensätzliche Verhalten von Schilddrüse und Milz bei Sauerstoffmangel mit seinem auffallenden Parallelismus gegenüber der Reaktionsweise des Knochenmarks auf die beiden Drüsen. Sicher ist auch die so fein gegeneinander eingestellte Regulation durch Schilddrüse und Milz, daß Fehlen beider Organe geradezu zu einer vollständigen Kompensation führte. Neue Ausblicke eröffnen sich im Hinblick auf die Beziehungen der Milz zum respiratorischen Stoffwechsel. Herr Danoff hat, im Anschluß an meine Arbeit, diese Frage in Angriff genommen.

Die Hauptergebnisse dieser Arbeit, zusammengestellt, lauten:

1. Schilddrüsenlose Ratten zeigen bei hochgradiger Luftverdünnung keine Erstickungserscheinungen, höchstens beschleunigte, tiefere Atmung.

2. Sie verhalten sich gegen O_2-Mangel, der Normaltiere dem Erstickungstod nahebringt, ganz gleichgültig.

3. Milzlose Tiere reagieren auf O_2-Mangel empfindlicher als Normaltiere.

4. Schilddrüsen- und milzlose Ratten zugleich verhalten sich bei O_2-Mangel wie Normaltiere. Somit konnten die wichtigsten Resultate von Dubois' Arbeit durch die vorliegende Experimentalserie auf eine neue Weise bestätigt werden.

5. Das Fehlen der Schilddrüse bedingt Gleichgültigkeit gegen O_2-Mangel, das Fehlen der Milz Überempfindlichkeit. Da nun schilddrüsenlose, milzlose und Normaltiere unter genau denselben mechanischen Bedingungen so verschiedenes Verhalten zeigen, so kann dies nur auf chemischen Vorgängen beruhen. Daher ist die Erklärung dieser Erscheinungen (die mit der Bergkrankheit gewisse Analogien zeigen) durch die mechanische Theorie sehr in Frage gestellt.

6. Die Atmungskohlensäure hat auf das Zustandekommen der Symptome bei kurzdauerndem O_2-Mangel keinen merklichen Einfluß.

7. Der respiratorische Stoffwechsel scheint nicht allein von der Tätigkeit der Thyreoidea, sondern auch von derjenigen der Milz abzuhängen.

7. Die Mansfeldsche Anschauung, daß der Sauerstoffmangel, das Carnotsche Serum und die Einwirkung des Höhenklimas bei Anämie an der Schilddrüse direkt angreifen, wird durch die vorliegenden Versuche unwahrscheinlich.

Zur Kenntnis der antagonistischen Salzwirkungen[1]).

Von

L. W. H. van Oijen.

(Aus dem hygienischen Laboratorium der technischen Hochschule zu Delft, Holland.)

(Eingegangen am 13. Februar 1918.)

Seitdem die Entgiftung von Salzen durch Salze von Ringer (1) beschrieben wurde, hat diese Erscheinung die allgemeine Aufmerksamkeit auf sich gezogen, und man hat eingesehen, daß man es hier mit einem biologischen Prinzip von großer Allgemeinheit zu tun hat.

Robertson (2) gab 1910 eine ausführliche Skizze des Problems; seitdem wurde das Studium der antagonistischen Salzwirkungen zumal von Jacques Loeb (3—17) und von W. J. V. Osterhout (18, 19) zur Hand genommen. Zur Erklärung des Mechanismus dieser Erscheinungen hat Loeb, im Anschluß an seine Experimente mit den Eiern von Fundulus, seine „Gerbungstheorie" aufgestellt: Die reine $^m/_2$- oder $^5/_8$ m-NaCl-Lösung tötet das Ei, weil das NaCl rasch durch die Mikropyle eines Eies diffundiert; fügt man aber ein Salz mit zweiwertigem Metall hinzu, so wird der Kolloidpfropf in der Mikropyle durch das Zusammenwirken beider Salze für die letzteren nahezu undurchgängig gemacht, und der Embryo bleibt am Leben; die Schutzwirkung oder die antagonistische Wirkung beruht auf einer kombinierten Gerbwirkung der beiden Salze auf ein Kolloid, das vermutlich in der Mikropyle liegt.

---

[1]) Folgende Untersuchung wurde im Frühling 1914 angefangen, doch sie blieb unvollendet: 1. August 1914 hörte auch für mich alle wissenschaftliche Arbeit auf, und wahrscheinlich werde ich noch lange nicht in der Lage sein, die Bearbeitung des Problems wieder aufzunehmen. Doch möchte ich die ersten Resultate meiner Arbeit — die ich nur vorläufig nennen kann — veröffentlichen, da dieselben wohl den Eindruck erzeugen, daß eine Untersuchung in dem angegebenen Sinne die Mühe lohnen wird.

Das ist, kurz zusammengefaßt, die „Gerbungstheorie", aufgestellt für den speziellen Fall, wobei es sich um die Eier von Fundulus handelt. Jedoch die antagonistische Wirkung ist etwas Allgemeines; jedesmal hört man von neu entdeckten Fällen, die den oben genannten ganz analog sind.

Zur näheren Aufklärung des Mechanismus erschien es mir erwünscht, das Problem von physikalisch-chemischer Seite anzugreifen, d. h. das Verhalten in physikalisch-chemischem Sinne der verschiedenen giftigen und entgifteten Lösungen zu untersuchen, ohne dabei ihre physiologischen Wirkungen mit in Betracht zu ziehen; das Resultat wird zweifelsohne auch von einem rein physikalisch-chemischen Standpunkt von Bedeutung sein können.

Die Giftwirkung einer reinen NaCl-Lösung ist bis zu einem gewissen Grade einer Desinfektionswirkung gleichzustellen; also liegt es auf der Hand, das Studium dieser Giftwirkung und auch die Untersuchung der Hemmung derselben, d. h. der antagonistischen Wirkungen, in der Weise anzugreifen, wie es bei der Untersuchung der Desinfektionsvorgänge gebräuchlich ist. In einem Abschnitt „Lösung, Adsorption und chemische Bindung" behandelt Bürgi (20) die verschiedenen physisch-chemischen Eigenschaften der desinfizierenden Lösungen, die für das baktericide Vermögen von Bedeutung sein können. Im allgemeinen wird beim Desinfektionsprozeß das Desinfektans in die Zelle hineindringen, nachdem es zuvor wohl oder nicht adsorbiert worden war, und dort im Innern der Zelle wird es sich dann physisch lösen oder chemisch binden. Bei solch einer allgemeinen Betrachtungsweise haben wir uns nacheinander mit Adsorption, Diffusion und mit Lösung oder Bindung in der Zelle zu beschäftigen; „sie können bei ein und demselben Desinfektionsprozeß nacheinander zur Geltung kommen, aber nur in den wenigsten Fällen sind wir über die vorwiegende oder ausschließliche Bedeutung des einen dieser Faktoren genau orientiert" (Bürgi).

Die Adsorption ist also ein Faktor, der beim Studium der Giftwirkung von irgendeiner Lösung an erster Stelle in Betracht gezogen werden muß.

Die Bedeutung der Adsorption für die biologische Wissenschaft wird denn auch allgemein anerkannt; neulich hat H. Freundlich (21) darüber noch einen Vortrag gehalten, worin bereits die Vermutung ausgesprochen wurde, daß auch bei den entgiftenden Ioneneinflüssen die Adsorption möglicherweise mit im Spiele sein könnte. Das ist auch sehr plausibel. So hat Morawitz (22) gefunden, daß die Erythrocyten des Pferdeblutes, gewaschen mit und suspendiert in physiologischer Kochsalzlösung, $HgCl_2$, das auch von Kohle und von anderen Adsorbienten stark aufgenommen wird, gleichfalls stark und regelmäßig der Adsorptionsisotherme gemäß adsorbieren; und da Paul und Krönig fanden, daß die desinfizierende Wirkung des Sublimats ebenso von der Konzentration der Lösung bedingt wird wie in der Adsorptionsisotherme die adsorbierte Menge von dieser Konzentration, so lag die Vermutung

auf der Hand, daß eben die baktericide Kraft mit der an den Spuren adsorbierten Sublimatquantität Schritt halten würde. Doch es gibt mehr. Bürgi (l. c.) gibt von diesen Beobachtungen einen Überblick. Paul, Birstein und Reuß glaubten bereits einige ihrer Resultate am besten auf die Adsorption zurückführen zu können, und H. Bechhold (23) hat das Problem schon ausführlich untersucht. Nach Freundlich (24) werden nur schwach adsorbiert: Salze (speziell die der unedlen Metalle), stark dissoziierte Stoffe, Körper, die viel OH-Gruppe oder Sulfogruppe im Molekül haben. Bechhold (l. c.) macht nun auf die relativ geringe Brauchbarkeit dieser Stoffe für Desinfektionszwecke aufmerksam; die Salze der schweren Metalle zeigen dagegen ein großes Adsorptionsvermögen, und vor allem das äußerst giftige Sublimat! Anorganische Halogene im allgemeinen werden auch wohl stark adsorbiert, und auch organische Stoffe, welche die Phenylgruppe enthalten, zumal in wäßriger Lösung, viel besser als in Öl, Alkohol oder Aceton, worin sie auch viel schwieriger desinfizieren. Es scheint auch logisch, die bekannte desinfizierende Wirkung äußerst verdünnter Lösungen [nach Koch von zahlreichen Forschern dargelegt; s. Bechhold und Ehrlich (25)] auf die Adsorption zurückzuführen, eben weil die gelösten Stoffe, wie Bürgi (l. c.) bemerkt, in geringer Konzentration fast ganz adsorbiert werden und sich erst bei größerer Konzentration immer mehr nach dem Henryschen Satze zu verteilen anfangen. Beim Studium der Bedeutung der Adsorption für biologische Erscheinungen unterscheidet Bechhold (l. c.) chemische und biologische Methoden. Nach der chemischen Methode arbeiteten u. a. Herzog und Betzel (26). Sie haben verschiedene Desinfektionsmittel in wechselnder Konzentration auf Preßhefe einwirken lassen. Darauf wurde abzentrifugiert und die nicht aufgenommene Giftmenge bestimmt. Silbernitrat und Chloroform wurden offenbar adsorbiert, und man fand, daß es sich hierbei um ein umkehrbares Gleichgewicht handelte. Vom Formaldehyd wurde immer eine kleine konstante, von der Konzentration unabhängige Menge gebunden (bei ganz kleinen Konzentrationen traten regelmäßige Abweichungen auf, die zu der Annahme führten, daß die Hefe, wenn sie „mild abgetötet“ wird, möglicherweise etwas Formaldehyd zerlegen könne); Phenollösungen schienen bei einigermaßen größeren Konzentrationen die Zellen dermaßen anzugreifen, daß die Membranen verletzt wurden und ein Teil des Zellinhaltes nach außen trat, wodurch die zentrifugierte Flüssigkeit stark gelb gefärbt wurde. Unter 1 $^0/_0$ fand auch hier die Reaktion wiederum wie bei einer Adsorption statt. Die Experimente mit toter Hefe ergaben ganz analoge Resultate. Die verschiedenen chemischen Bestimmungen brachten viele technische Schwierigkeiten und wurden mit großer Sorgfalt ausgeführt. Wo. Ostwald (27) stellte fest, daß die Kurven, welche die Abhängigkeit der Giftwirkung verschiedener Salzlösungen auf Süßwasseramphipoden darstellen, eine bemerkenswerte Ähnlichkeit besitzen mit den Kurven, welche die Adsorption in verschiedenen konzentrierten Lösungen durch adsorbierende Körper veranschaulichen. Nach der biologischen Methode (Wahrnehmung der Ab-

sterbegeschwindigkeit) arbeiteten Paul, Birstein und Reuß, doch machte Bürgi mit Recht darauf aufmerksam, daß an dieser Methode viel auszusetzen wäre. Denkt man z. B. an die Bedenken, die von Reichenbach, Croner und Eykman in bezug auf die „monomolekulare Desinfektionsreaktion" erhoben worden sind, so ist man in der Tat geneigt, anzunehmen, daß die gefundenen Kurven hier wahrscheinlich nicht die Adsorptionsverhältnisse angeben, sondern daß sie den in den verschiedenen Konzentrationen auch wechselnden Widerstand der Entwicklungsstadien der Bakterien abbilden.

Um nun zu ermitteln, ob auch bei den giftigen resp. entgiftenden Wirkungen der „antagonistischen Salze" Adsorptionserscheinungen mit im Spiele sind, habe ich einige ganz einfache Adsorptionsbestimmungen ausgeführt mit Hilfe von 4 Lösungen, die nach den Angaben Osterhouts (28) hergestellt wurden. Die erforderlichen Salze wurden aus reinen Materialien durch wiederholte Umkrystallisation aus Alkohol und sorgfältiges Trocknen und Erhitzen hergestellt. Als erste Lösung wurde eine reine $^3/_{32}$ m-NaCl-Lösung genommen, bei der zweiten wurden auf 1000 ccm der ersten Lösung 22 ccm $^3/_{32}$ m-KCl-Lösung hinzugefügt, bei der dritten wurden statt des KCl auf 1000 ccm der NaCl-Lösung 10 ccm $^3/_{32}$ m-$CaCl_2$-Lösung zugefügt, während endlich die vierte Lösung aus 1000 ccm $^3/_{32}$ m-NaCl-, 22 ccm $^3/_{32}$ m-KCl- und 10 ccm $^3/_{32}$ m-$CaCl_2$-Lösung zusammengestellt wurde, worin Na, K und Ca ungefähr in demselben Verhältnisse vorkommen, wie in dem Meerwasser. Aus der wichtigen Tabelle, die Osterhout in bezug auf die Wirkung dieser Lösungen auf Vaucheria sessilis publizierte, entnehme ich folgendes:

Lösung	Länge erreicht in 35 Tagen	Entwicklung erreicht in 35 Tagen	Lebensdauer
Destilliertes Wasser	2,2 mm	Norm. Vorkommen Keine Rhizoide Keine Früchte	3 bis 4 Wochen
I. $^3/_{32}$ m-NaCl	Kein Wachstum		10 bis 20 Min.
II. 1000 ccm $^3/_{32}$ m-NaCl 22 „ $^3/_{32}$ m-KCl	Kein Wachstum		2 bis 4 Stunden
III. 1000 ccm $^3/_{32}$ m-NaCl 10 „ $^3/_{32}$ m-$CaCl_2$	2,2 mm	Norm. Vorkommen Keine Rhizoide Keine Früchte	2 bis 4 Wochen
IV. 1000 ccm $^3/_{32}$ m-NaCl 22 „ $^3/_{32}$ m-KCl 10 „ $^3/_{32}$ m-$CaCl_2$	4,6 mm	Norm. Vorkommen Rhizoide Keine Früchte	6 bis 8 Wochen

Von diesen 4 Salzlösungen (I bis IV) habe ich immer 20 ccm in einer Reagensröhre während 6 Stunden mit den verschiedenen Adsorptionsmitteln auf den Schüttelapparat gebracht; darauf ließ ich die Suspensionen sich absetzen, filtrierte und bestimmte in einem aliquoten Teile (10 ccm) die nicht adsorbierte Chlormenge titrimetrisch nach Volhard mit einer gesättigten Eisenammoniakalaunlösung als Indicator. So wurde gefunden:

Adsorb. Chlor in %			
Lösung I	Lösung II	Lösung III	Lösung IV
3,5	2,7	1,2	0,6
3,3	2,4	0,6	0,3
3,3			0,6

Das Resultat dieses einfachen Experimentes — der gefundene große Parallelismus von Giftigkeit und Adsorptionsvermögen, doch auch die große Änderung des letzteren nach dem Zusatz von einer Spur eines zweiten Salzes — ist allerdings überraschend nicht nur in biologischer, sondern auch in rein physikalisch-chemischer Hinsicht (Valenzbegriff) und verlangt eine nähere Prüfung auch mit anderen Lösungen und Adsorbenzien. Mit Preßhefe bekam ich keine Resultate, wahrscheinlich durch nicht zu beseitigende Verunreinigungen.

Die Diffusion ist der zweite Faktor, der hier interessiert. Auch diese Erscheinung ist für die Biologie von großer Bedeutung. Es besteht eine große Meinungsverschiedenheit über die nähere Erklärung der Diffusion durch die Zellmembran. Es ist hier nicht die Stelle, darauf näher einzugehen; dem Löslichkeitsphänomen der Lipoidtheorie (Overton, Meyer) stellt Ruhland (29) seinen Filtrationsprozeß gegenüber. Ich möchte hier nur auf die Experimente Osterhouts (siehe u. a. 19) hinweisen, dessen Resultate nicht in Übereinstimmung mit der Lipoidtheorie zu sein scheinen. Eckardt (30) hat schon einen ganz deutlichen Parallelismus gefunden zwischen der Desinfektionswirkung und der Diffusionsgeschwindigkeit durch tierische und pflanzliche Membrane.

Wir fragen uns jetzt: ändert die Diffusionsgeschwindigkeit einer $^3/_{32}$ m-NaCl-Lösung sich bedeutend, wenn man 1% $^3/_{32}$ m-$CaCl_2$-Lösung hinzusetzt, wodurch, wie wir gesehen haben, die giftige Wirkung ganz bedeutend herabgesetzt wird? Würde dies der Fall sein, so wäre das, abgesehen von der Bedeutung für die Erklärung biologischer Erscheinungen, auch

zweifelsohne in rein physikalisch-chemischer Hinsicht von Bedeutung.

Loeb und Osterhout haben wohl für einige besondere Fälle (Spirogyra, Fundulus) zeigen wollen, daß durch einen Zusatz von $CaCl_2$ die Permeabilität der betrachteten Zellhäute herabgesetzt wurde, aber jetzt stellen wir uns das Problem anders und fragen, ob die Diffusionsgeschwindigkeit der NaCl-Lösung an sich durch Zusatz einer Spur $CaCl_2$ geändert wird? Um dies näher zu ermitteln, habe ich wiederum eine ganz einfache Probe angestellt. 50 ccm der zu untersuchenden Lösungen wurden in einer Anzahl gleicher zylindrischer Pergament-Dialysatoren der Dialyse in 300 ccm dest. Wasser unterworfen, und nach bestimmter Zeit wurden die Mengen des hindurchdiffundierten Salzes aus einem aliquoten Teil gemessen. So bekam ich mit den Lösungen I und IV folgende Resultate:

Lösung	Diffund. Cl in mg nach:		
	3 Std.	6 Std.	24 Std.
I	37,2	82,2	123,8
IV	45,6	46,6	108,6

Auch bei anderen Versuchsanordnungen blieb die giftige Lösung (I) im Anfang immer etwas bei der ungiftigen zurück; nach einigen Stunden ändert sich das Verhalten: die ungiftige bleibt sehr merklich bei der giftigen in Diffusionsgeschwindigkeit zurück, doch nach längerer Zeit erreichen beide dasselbe Gleichgewicht. Ich wiederhole, daß auch diese Probe für Vervollständigung und Ausbreitung (andere Lösungen und Membrane) fähig sei; die erwähnten vorläufigen Resultate erregen die Erwartung, daß eine fortgesetzte Untersuchung in dem angegebenen Sinne schöne Erfolge bringen könne (Valenzbegriff).

Die Wirkung im Zellinnern ist der letzte Faktor, und sie ist zweifelsohne am schwierigsten zu studieren. T. Brailsford Robertson (2) gab einen ausführlichen Überblick „über die Verbindungen der Proteine mit anorganischen Substanzen und ihre Bedeutung für die Lebensvorgänge". Auch der Antagonismus von Salzen gegen Salze wurde hier mit in Betracht gezogen. Eine Vorstellung des Mechanismus dieser Erscheinung wird aber nicht gegeben. Doch stehen wir hier an der Grenze

unseres Wissens, und ich möchte die Behandlung dieses Themas befugteren Händen überlassen; ich bringe nur das analoge Problem der Präcipitationsschwelle für Kolloide in Erinnerung.

Literaturverzeichnis.

1. Ringer, Journ. of Physiol. 1884 bis 1894.
2. T. Brailsford Robertson, Ergebnisse der Physiologie (Asher und Spiro) **10**, 216, 306, 1910.
3. J. Loeb, diese Zeitschr. **31**, 450, 1911.
4. Ders., ib. **32**, 155, 1911.
5. Ders., ib. **32**, 308, 1911.
6. Ders., ib. **33**, 480, 1911.
7. Ders., ib. **33**, 489, 1911.
8. Ders., ib. **36**, 275, 1911.
9. Ders., ib. **39**, 167, 1912.
10. Ders., ib. **39**, 185, 1912.
11. Ders., ib. **39**, 194, 1912.
12. Ders., ib. **43**, 181, 1912.
13. Ders., ib. **47**, 127, 1912.
14. Ders., Science **34**, 653, 1911.
15. Ders., ib. **35**, 111, 1911.
16. Ders., ib. **36**, 637, 1912.
17. Ders., Journ. of Biolog. Chem. **11**, 415, 1912.
18. W. J. V. Osterhout, Science **34**, 187, 1911.
19. Ders., ib. **35**, 112, 1912.
20. E. Bürgi, Chem. Desinfektionslehre (Handb. Kolle und Wassermann **3**, 543, 1913).
21. H. Freundlich, Chem. Weekblad **10**, 772, 1913.
22. Morawitz, Koll-Chem. Beih. **1**, 301, 1910; Zeitschr. f. Koll.-Chem. **6**, 259, 1910.
23. H. Bechhold, Zeitschr. f. phys. Chem. **56**, 105.
24. H. Freundlich, Koll.-Chem. Beih. **1**, 317.
25. Bechhold und Ehrlich, Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**, 173.
26. Herzog und Betzel, Zeitschr. f. physiol Chem. **74**, 221.
27. Wo. Ostwald, Arch. f. d. ges. Physiol. **120**, 19, 1907.
28. W. J. V. Osterhout, Journ. of Biolog. Chem. **1**, 363, 1905/06.
29. W. Ruhland, Zeitschr. f. Chem. u. Ind. der Koll. **12**, 113.
30. Eckardt, Diss., Leipzig 1898 (zit. nach Ernst Cohen: Vortr. üb. physikal. Chem. f. Ärzte).

Autorenverzeichnis.

Berichtigung.

In der Mitteilung: „Ergänzende Bemerkungen über die Mikrobestimmung des Traubenzuckers“ von **Ivar Bang**, diese Zeitschr. **87**, muß es heißen auf S. 271 1. Z. v. o. 75 g K_2CO_3 statt 15 g K_2CO_3; S. 272 7. Z. v. u. $^{n}/_{10}$-KJO_3 statt $^{n}/_{100}$-KJO_3.





